

**BLUTERSATZ MIT
STROMAFREIER HÄMOGLOBINLÖSUNG**

Michael H. Schoenberg

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
der Universität München, Klinikum Großhadern
(Direktor: Prof. Dr.Dr. h.c. W. Brendel)

BLUTERSATZ MIT STROMAFREIER HÄMOGLOBINLÖSUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael H. Schoenberg
aus München

1980

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Brendel, Prof. Dr. Meßmer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Peter

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 11. März 1980



Meinen Eltern und Christine in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

- A. Einleitung
- B. Methodik
 - 1. Versuchsvorbereitung
 - 2. Messungen
 - 3. Berechnungen
 - 4. Versuchsablauf
 - 5. Präparation und Analyse
der Hämoglobinlösungen
- C. Ergebnisse in vivo
 - 1. Parameter zum Ablauf des Versuchs
 - 2. Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration
im Versuchsablauf
 - 3. Die hämodynamische Situation der
Hunde vor, eine Minute nach und
zehn Minuten nach dem Austausch
 - 4. Verhalten der Hämodynamik im
weiteren Versuchsablauf
 - 5. Sauerstoffversorgung der Versuchstiere
nach Entblutung und Infusion von
stromafreiem Hämoglobin
 - 6. Natrium- und Kaliumkonzentrationen im
Serum und kolloidosmotischer Druck des
Plasmas während des Versuchs und in den
Tagen danach
 - 7. Verhalten des pH, des $p\text{CO}_2$ und der
Bikarbonatkonzentration während des Versuchs

8. Veränderung von Kreatinin- und Gesamtbilirubinkonzentrationen
9. Ergebnisse der Sektion und der pathologisch-histologischen Untersuchung

D. Diskussion

1. Abbau und Ausscheidung von freiem Hämoglobin im Blutkreislauf
2. Der Hämoglobin-Haptoglobinkomplex
3. Der Hämatin-Hämopexinkomplex
4. Katabolismus des gebundenen Hämoglobins und der Hämatin-Proteinkomplexe
5. Filtration, Abbau und Ausscheidung von freiem Hämoglobin durch die Niere
6. Nierenverträglichkeit von SFH
7. Hämoglobinabbau in der Leber
8. Auswirkung von Hämoglobinlösungen auf Lungenfunktion und Lungenkreislauf
9. Hämodynamische Änderungen nach SFH-Infusion
10. Sauerstoffversorgung der Gewebe durch SFH
 - 10.1. Sauerstoffaffinität von SFH in vitro
 - 10.2. Auswirkungen des pH auf die Sauerstoffaffinität
 - 10.3. Einfluß von 2,3 DPG auf die Sauerstoffaufnahme und -abgabe
 - 10.4. Anteil des extraerythrozytären Hämoglobins an der Sauerstoffversorgung der Tiere
11. Pathologische Veränderungen nach SFH-Infusion
12. Pathologisch-histologische Veränderungen nach SFH-Infusion

E. Ausblick

F. Zusammenfassung

G. Literaturverzeichnis

A. EINLEITUNG

Der ständige Fortschritt der Medizin, insbesondere der Chirurgie, fordert heute mehr denn je ein Blutersatzmittel, das nicht nur das Blutvolumen ersetzt, sondern im Gegensatz zu den heute bekannten Plasmaexpandern Sauerstoff auch transportiert und abgibt.

Die drei wichtigsten Anwendungsbereiche für ein "ideales" Blutersatzmittel wären:

1. ein zeitlich begrenzter Blutersatz bei der Behandlung des hämorrhagischen Schocks,
2. eine Ersatzlösung bei prolongierten Blutverlusten während Operation und
3. eine Perfusionslösung für die extrakorporale Zirkulation beziehungsweise Konservierung von Spenderorganen.

Dieses "ideale" Blutersatzmittel sollte über eine intravasale Halbwertszeit von mindestens sechs Stunden verfügen.

Um die Blutviskosität nach Infusion der Ersatzlösung zu senken und somit die Mikrozirkulation zu erleichtern, sollte es eine niedrige Eigenviskosität besitzen.

Es sollte keine Antigendeterminanten enthalten und keine Serumhepatitis übertragen.

Die Infusionslösung und ihre Abbauprodukte sollten zu keinerlei schädlichen Nebenwirkungen führen.

Des weiteren sollte sie leicht und billig herstellbar sein und auch nach langfristiger Lagerung ihre therapeutische Wirksamkeit nicht verlieren.

Die Möglichkeit, mit Hämoglobinlösungen Sauerstoff zu transportieren und ans Gewebe abzugeben, beschäftigte schon in den dreißiger Jahren unseres Jahrhunderts verschiedene Wissenschaftler. AMBERSON et al. sowie SALASKIN und KRIWSKY (2,126) stellten Lösungen aus hämolysierten Erythrozyten her. Da sie aber die Membrananteile der Erythrozyten nicht quantitativ entfernen konnten, kam es nach Anwendung dieser Lösungen bei verschiedenen Versuchstieren zu schweren Gerinnungsstörungen und Nierenschäden.

Erst als es 1967 RABINER gelang, eine Hämoglobinlösung herzustellen, die frei von Stroma und dessen Anteilen war, erwachte das Interesse an diesen Lösungen als Blutersatzmittel wieder.

Die uns heute zur Verfügung stehenden stromafreien Hämoglobinlösungen verfügen über eine niedrige Eigenviskosität, wie COCKELET et al (31) und SUNDER-PLASSMANN et al. (145) feststellten.

Verschiedentlich kam es bei Tierversuchen nach Infusion von Humanhämoglobinlösungen zu Antigen-Antikörperreaktionen. CHERNOFF (29) und SASAZUKI (127) konnten zeigen, daß Humanhämoglobin schwach antigen bei Kaninchen wirkt. ENDRICH (38) beobachtete in seinen Versuchen, daß einer von 9 Hunden nach Erhalt von Humanhämoglobinlösung eine generalisierte Urtikaria entwickelte. Ob die Unverträglichkeitserscheinungen durch die Verunreinigung mit Erythrozytenstroma bedingt waren (32), oder aber eine spezifische Reaktion auf das artfremde Hämoglobin darstellten, konnte nicht geklärt werden.

Keine anaphylaktoiden Reaktionen konnten beobachtet werden, wenn bei Patienten ein- oder mehrmals Humanhämoglobinlösung - also artgleiche Hämoglobinlösung - infundiert wurde (2,70). Es kann daher angenommen werden, daß stromafreie Hämoglobinlösung, hergestellt aus Humanerythrozyten, beim Patienten keinen antigenen Effekt hat. Stromabestandteile in Hämoglobinlösungen verkürzen die Gerinnungszeit, erhöhen den Thrombinverbrauch und führen zu einer disseminierten intravasalen Coagulopathie (112). Nach Entfernung des Erythrozytenstromas aus der Lösung konnte keine erhöhte Gerinnungsbereitschaft mehr festgestellt werden, sondern auf Grund einer Inaktivierung von Faktor VIII eine antikoagulatorische Wirkung (93). Durch Absorption mit Aluminiumhydroxygel hoben MOSS et al. (93) diese Inaktivierung auf und erreichten so eine Normalisierung der Blutgerinnung.

Hochgereinigte stromafreie Hämoglobinlösung scheint somit keinen Einfluß auf die Blutgerinnung auszuüben (157,88,64).

Ein weiterer Vorteil ist, wie GREENBURG et al. (49), MESSMER et al. (88) und KOLESNIKOW et al. (70) an unterschiedlich hergestellten Lösungen fanden, daß Hämoglobinlösungen in lyophilisiertem Zustand mehrere Monate gelagert werden können, ohne ihre therapeutische Wirksamkeit zu verändern.

Neben diesen Vorteilen weist stromafreie Hämoglobinlösung jedoch auch heute noch entscheidende Nachteile auf.

Es ist noch immer nicht geklärt, ob hohe extraerythrozytäre Hämoglobinkonzentrationen und die Hämoglobinabbauprodukte schädliche Nebenwirkungen in den Organen, speziell der Niere verursachen (26,64,71).

Außerdem verfügt stromafreie Hämoglobinlösung über eine kurze intravasale Verweildauer und eine hohe Sauerstoffaffinität.

Ziel der vorliegenden Versuchsreihe war, an Hunden zu prüfen, ob nach massivem Blutverlust stromafreie Hämoglobinlösung zumindest kurzfristig als Blutersatz Verwendung finden könnte.

Dazu untersuchten wir die Effekte zweier unterschiedlicher Hämoglobinlösungen auf die Hämodynamik und ihren Beitrag an der Gesamtsauerstoffversorgung der Tiere. Außerdem versuchten wir die Frage zu beantworten, ob der Abstrom von onkologisch wirksamen Hämoglobinmolekülen ins Interstitium bei nachfolgender Infusion größerer Volumina kristalloider Lösung die Entwicklung eines interstitiellen Gewebsödems, das besonders in Form eines Lungenödems eine ernste Gefahr darstellen würde, begünstigt.

Um mögliche Organschäden durch stromafreie Hämoglobinlösung festzustellen, wurden Leber, Lunge, Herz und Nieren der Versuchstiere histopathologisch untersucht.

B. METHODIK

Die Versuche wurden an zwölf Bastardhunden mit einem mittleren Körpergewicht von 14,6 kg durchgeführt. Die Hunde waren vier bis sechs Wochen vor dem Versuchstag splenektomiert worden und klinisch gesund.

1. Versuchsvorbereitung

Nach Prämedikation mit 0,3 ml Thalamonal⁺ und 1 ml Atropin-sulfat⁺⁺ wurden die Tiere durch intravenöse Injektion von 0,5 ml/kg Körpergewicht (KG) Pentobarbital⁺⁺⁺ narkotisiert und endotracheal intubiert.

Dann wurden die Arteria und Vena femoralis, die beiden Venae jugulares externae, die Arteria carotis sinistra und die Arteria brachialis sinistra unter sterilen Bedingungen freigelegt.

Um die Hunde rasch entbluten zu können und um den arteriellen Blutdruck zu messen, wurde ein PVC-Katheter über die Arteria femoralis in die Aorta abdominalis gelegt. Ein zweiter Katheter führte von der Vena femoralis in die Vena abdominalis und diente als venöser Zugang. Unter Bildwandlerkontrolle wurde ein Polyäthylenkatheter von Vena jugularis sinistra in den rechten Vorhof geschoben und zur Messung des Herzminutenvolumens ein Thermistor über die Arteria brachialis sinistra in die Aorta ascendens. Über die Vena jugularis dextra wurde ein doppelummigter Swan-Ganz-Ballon-Katheter (7F) (146) durch Vorhof und Ventrikel des rechten Herzens in einen Ast der Arteria pulmonalis gelegt.

+ Thalamonal^P, Jansen GMBH, Düsseldorf

++ Atropin sulfr., Dr. Fresenius, Homburg vor der Höhe

+++ Nembutal^R, Abbot GMBH Ingelheim

Sorgfältig und bedacht Blutungen zu vermeiden, präparierten wir den rechten Musculus sartorius frei und lösten die Muskelfaszie von der Oberfläche ab. An der faszienfreien Stelle wurde eine Platinmehrdrahtelektrode nach KESSLER und GRUNEWALD (69) aufgesetzt, um den lokalen Sauerstoffpartialdruck an der Muskeloberfläche zu bestimmen.

Vor Aufsetzen der Elektrode wurde den Tieren 3 mg/kg KG Heparin⁺ in physiologischer Kochsalzlösung intravenös injiziert, damit mögliche Blutungsquellen im Elektrodenbereich frühzeitig entdeckt werden konnten, und sich die Katheter nicht trombotisch verlegten.

Ferner wurde die zweite Extremitätenableitung des EKG⁺⁺ angelegt und für die Dauer des Versuchs aufgezeichnet.

Anschließend wurden die Hunde mit 4 ml/kg KG Succinylcholin⁺⁺⁺ relaxiert und mit einer Starlingpumpe beatmet. Das Luftgemisch enthielt 30% Sauerstoff; Atemfrequenz und -volumen wurden so eingestellt, daß der pCO₂ in der Ausatemungsluft etwa 40 mmHg betrug.

Der nach den langen Versuchsvorbereitungen negative base excess wurde durch eine intravenöse Injektion von Natriumbikarbonat⁺⁺⁺⁺ nach der Formel $BE \times 0,3 \text{ KG}$ ausgeglichen.

+ Heparin Novo^R, Novo Industrie GMBH, Mainz

++ Monitor, Zweistrahl-Sichtgerät und EKG-Verstärker, Mela GMBH, München

+++ Lysthenon^R, Lentia GMBH, München

++++ 8,4% Natriumbikarbonat, Fa. Braun Melsungen AG

2. Messungen

1. Mittlerer arterieller Druck und rechter Vorhofdruck mit Stathamelementen und ständiger Aufzeichnung mit dem Direktschreiber (Physioscript, Fa. Schwarzer, München).
2. Über den Swan-Ganz-Ballon-Katheter der Druck in der Arteria pulmonalis mit fortlaufender Übertragung durch Stathamelemente auf den Direktschreiber (siehe oben).
3. Durch Aufblasen des distal gelegenen Ballons am Swan-Ganz-Katheter wurde der Ast der Arteria pulmonalis verlegt. Der vom Ballon gemessene Druck in den Lungenkapillaren wurde in gleicher Weise wie 1. und 2. übertragen und aufgezeichnet.
4. Herzminutenvolumen mit der Thermodilutionsmethode (August Fischer KG, Göttingen).
5. Herzfrequenz durch einen Herz- und Pulsmonitor (Mela-GmbH, München).
6. Hämatokrit mit der Mikrozentrifuge (5 Minuten bei 5000 Umdrehungen/Minute, Mikrozentrifuge Hettich, Tuttlingen).
7. Konzentration des Hämoglobins im Vollblut und Plasma mit der Cyanhämglobinmethode (photometrisch, Photometer Eppendorf).
8. Venöser pH mit der Mikromethode von Astrup (Radiometer Kopenhagen), venöser $p\text{CO}_2$, Standardbikarbonat, base excess nach dem Nomogramm von SIGGAARD-ANDERSEN (138).

9. pCO_2 im arteriellen und venösen Blut polarographisch mit der Platinelektrode nach dem modifizierten Verfahren von KESSLER und GRUNEWALD (69)
10. Kolloidosmotischer Druck im Plasma mit einem Membranosmometer (Fa. Knauer, Berlin)
11. Gesamtbilirubin, Kreatinin und Harnstoff (Biochemica Test Combination, Boehringer GMBH, Mannheim, photometrisch Zeiss Photometer, Oberkochen)
12. 2,3 Diphosphoglycerat im Vollblut (Methode Fiske-Subbarow, Sigma St. Louis, USA, photometrisch Zeiss Photometer, Oberkochen)
13. Die Serumelektrolyte Na^+ und K^+ flammenphotometrisch (Flammenphotometer Eppendorf)
14. Arterieller und venöser Sauerstoffgehalt des Vollbluts und Plasmas (Lex- O_2 -Con Lexington, Instruments Company, Lexington Mass., USA). Um das Plasma anaerob zu gewinnen, wurde das Vollblut in einem Röhrchen mit Paraffin überschichtet. Nach zehnminütiger Zentrifugation wurde dann das Plasma mit einer Spritze entnommen, und der O_2 -Gehalt im Lex- O_2 -Con gemessen.

Mit diesem Gerät wurde auch die Sauerstoffkapazität der beiden Hämoglobinlösungen vor dem Versuch und die des Plasmas während des Versuchs bestimmt.
15. P_{50} mit dem Sauerstoff-Dissoziationskurvenanalysator (DCA_1) nach DUVELLEROY et al. (36) (Radiometer Kopenhagen)

16. Temperatur rektal mit Quecksilberthermometer

3. Berechnungen

1. Totaler peripherer Widerstand =

$$\frac{\text{mittl. art. Druck} - \text{re. Vorhofdruck}}{\text{Herzzeitvolumen}} \quad \frac{\text{mmHg} \times \text{kg}}{\text{ml}}$$

2. Pulmonaler Gefäßwiderstand =

$$\frac{\text{pulm. art. Druck} - \text{Lungenkap.-Druck}}{\text{Herzzeitvolumen}} \quad \frac{\text{mmHg} \times \text{kg}}{\text{ml}}$$

3. Sauerstoffangebot des Vollblutes bzw. Plasmas =

$$\text{O}_2\text{-Gehalt} \times \text{HZV}$$

4. Sauerstoffaufnahme aus dem Vollblut bzw. Plasma =

$$\text{AVD-O}_2 \times \text{HZV}$$

5. Sauerstoffextraktion aus dem Vollblut bzw. Plasma =

$$\frac{\text{AVD-O}_2 \times 100}{\text{O}_2\text{-Gehalt Vollblut bzw. Plasma}}$$

6. Sauerstoffextraktion aus dem Plasma unter Berücksichtigung des physikalisch gelösten Sauerstoffs:

$$\text{O}_2\text{-Gehalt}_{\text{Plasma-Hb}} (\text{Vol}\%) =$$

$$\text{O}_2\text{-Gehalt}_{\text{Plasma}} (\text{Vol}\%) - p\text{O}_2 (\text{mmHg}) \times 0,003 (\text{Vol}\%/\text{mmHg})$$

7. Blutvolumen der Hunde = 7,6% ihres Körpergewichts
(129,130)
8. Die statistische Prüfung auf Signifikanz erfolgte
nach dem Student-t-Test für Mittelwerte.

4. Versuchsablauf

Nach den Kontrollmessungen wurden die Hunde aus dem Femoraliskatheter rasch entblutet bis entweder Herzstillstand eintrat, oder 2/3 des vorher errechneten Blutvolumens entzogen war (siehe oben). Dann wurden die Tiere sofort durch eine schnelle isovolämische Infusion einer 6%igen Hämoglobinlösung und, wenn nötig, durch äußere Herzmassage wiederbelebt.

60 Minuten nach Entblutung und Hämoglobininfusion wurde der abfallende rechte Vorhofdruck durch Infusion einer Ringers-Laktat-Lösung auf das Niveau der Kontrollwerte angehoben und für die Dauer des Versuchs durch fortlaufenden Ersatz konstant gehalten.

Messungen und Blutabnahmen erfolgten vor, und 10, 60, 120 und 240 Minuten nach dem Blutaustausch. Darüber hinaus bestimmten wir alle 30 Minuten den Hämatokrit und die Hämoglobinkonzentration in Vollblut und Plasma. Das für die Bestimmung abgenommene Blut wurde mit einem Gemisch aus einem Teil Vollblut und zwei Teilen Hämoglobinin-Lösung ersetzt.

Nach der letzten Blutabnahme wurden die Katheter entfernt, die Wunden verschlossen, die Tiere in den Zwinger gebracht und beobachtet. Vom Versuchsende bis zum 5. Tag post operationem bekamen sie prophylaktisch Antibiotika.

Am 1., 3., 5. und 7. Tag nach dem Versuch wurde ihnen etwa 10 ml venöses Blut entnommen, um Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration in Vollblut und Plasma, Bilirubin, Harnstoff, Kreatinin, 2,3 DPG, Na^+ , K^+ und den kolloidosmotischen Druck zu messen.

Sie wurden schließlich post mortem oder, sofern sie den 7. Tag post operationem überlebten, nach einer letalen Dosis Pentobarbital seziert. Den Herzen, Nieren, Lungen und Lebern der toten Tiere wurden Gewebsteile entnommen und zur pathologischen Begutachtung durch Herrn PD Dr. Pielsticker in das Pathologische Institut der Universität München geschickt.

5. Präparation und Analyse der Hämoglobinlösungen

Wir ersetzten das entzogene Blut durch zwei unterschiedliche Hämoglobinlösungen. In der Gruppe A (6 Hunde) verwendeten wir eine Lösung, die von der Firma Warner-Lamberts⁺ nach einer abgewandelten Methode von RABINER et al. (113) hergestellt wurde. Die 6 Hunde in Gruppe B erhielten eine von Bonhard (Biotest Serum Institut⁺⁺) (15) präparierte Lösung (15). Die Unterschiede zwischen beiden Herstellungsverfahren sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

Beide Lösungen waren nach Angaben der Hersteller steril und nach unseren eigenen Bestimmungen wie folgt zusammengesetzt:

Tabelle 1 In vitro Analyse der verwendeten Hämoglobinlösungen

Herstellungsfirma		Gruppe A Warner- Lamberts	Gruppe B Biotest Serum Institut	
Charge		49	750122	750129
Hb-Konz.	g%	5,95	6,15	5,94
K ⁺	mval/l	3,74	1,49	1,53
Na ⁺	mval/l	142,6	93,5	99,1
P ₅₀	mmHg	15,9	16,3	16,5
Osmolarität	mosmol/l	289	352	340
pH		7,601	7,161	7,550
O ₂ -Kapazität	Vol%	7,85	8,22	8,05
2,3 DPG	μMol/gHb	1,93	2,8	2,8
Kolloidosmotischer Druck	cmH ₂ O	34,55	41,1	46,4

+ Dr. M. Winbury (Warner Lambert Corp. Morris Plains/NJ/USA) sei für die freundliche Überlassung der Hb-Lösung (Warner-Lambert) gedankt.

++ Bei Herrn Dr. K. Bonhard möchte ich mich für die Überlassung der Biotest- Hämoglobinlösung bedanken.

Tabelle 2

Herstellungsverfahren der verwendeten Hämoglobinlösungen im Vergleich

Hersteller	<u>Fa. Warner Lamberts, Morris Plains/NJ</u>	<u>Fa. Biotest Frankfurt a.Main</u>
Methode	RABINER et al. (113,114)	BONHARD (15,16)
Ausgangsmaterial	Humanerythrozyten 4 mal gewaschen 1:1 mit 1,6g/100 ml NaCl-Lösung	mit β -Propionlaktone vorbehandelte Humanerythrozyten
	H ä m o l y s e	
	1:4 verdünnt mit 5 ideal milliosmolarem Na-Phosphatpuffer, pH=7,4	1:4,5 verdünnt mit aqua dest. zeitweilige Ansäuerung auf pH=5-6
	Ausfällung des Zellstromas	
	Z e n t r i f u g a t i o n	
	3-fache Filtration	
	Einstellung des Kaliums auf physiologische Werte	
	durch sterile Dialyse unter Druck sterile Filtration	durch Kationenaustauschharze sterile Filtration

C. ERGEBNISSE IN VIVO

1. Parameter zum Ablauf des Versuchs

Den Tieren der Gruppe A wurden 48,9 ml/kg KG, denen der Gruppe B 43,8 ml/kg KG Blut entzogen. Mit ca. 5 Minuten war die Entblutungszeit in beiden Gruppen annähernd gleich.

Der große Blutverlust führte in der Gruppe A bei 2 und in der Gruppe B bei 5 von jeweils 6 Hunden zum Herzstillstand. Da die Hämoglobinlösungen unmittelbar nach dem Entbluten infundiert wurden, verstrichen in Gruppe A lediglich 9,2 Sekunden bis der Herzstillstand behoben war. In der B-Serie jedoch waren im Durchschnitt 39,2 Sekunden erforderlich, um das Sistieren des Kreislaufs zu beheben, wobei bei 2 Hunden zusätzlich externe Herzmassage notwendig wurde. Nach 8,6 Minuten in der Gruppe A, beziehungsweise 11,6 Minuten in der Gruppe B war der Blutverlust durch die Infusion der Hämoglobinlösungen isovolämisch ersetzt.

Um nach einer Stunde den abgesunkenen rechten Vorhofdruck bis zum Versuchsende auf der vorher gemessenen Höhe zu stabilisieren, wurden den Tieren in der Serie A 11,9 ml/kg KG, in der Serie B 116,5 ml/kg KG Ringers-Laktat-Lösung infundiert.

Alle Hunde in Gruppe A überlebten den 7-tägigen Beobachtungszeitraum. In Gruppe B dagegen starben 5 von 6 Hunden innerhalb der ersten Woche.

Tabelle 3 Massiver Blutverlust und Reanimation mit
stromafreier Hämoglobinlösung

		Gruppe A	Gruppe B
Anzahl der Tiere		6	6
Entblutungsvolumen	ml/kg	48,9 $\pm$ 1,0	43,8 $\pm$ 1,4
Entblutungszeit	min	4,9 $\pm$ 0,3	5,5 $\pm$ 0,3
Herzstillstand		2/6	5/6
Dauer des Kreislaufstillstands	sec	9,2 $\pm$ 3,7	39,2 $\pm$ 14,7
Menge der Hb-Lösung	ml/kg	48,9 $\pm$ 1,0	43,8 $\pm$ 1,4
Dauer der Hb-Infusion	min	8,9 $\pm$ 1,8	11,6 $\pm$ 1,0
Menge der Ringers-Laktat-Lösung	ml/kg	111,9 $\pm$ 14,0	116,5 $\pm$ 19,4
Langzeitüberlebensrate		6/6	1/6

(Mittelwerte $\pm$ SEM, n = 6 in Gruppe A und B)

2. Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration im Versuchsablauf

Der Hämatokrit fällt nach Entblutung und Hämoglobininfusion in der Gruppe A von 33,5% auf 13% und in der Gruppe B von 36,3% auf 12,8% ab. Postexperimentell steigt er nur langsam an und erreicht am 7. Tag in der Gruppe A 21,5%. Eine weitergehende Aussage über die Tiere der Serie B kann nicht gemacht werden, da nur ein Hund den 7. Tag überlebte.

Der Gesamthämoglobingehalt der Tiere sank in beiden Gruppen bedingt durch den niedrigen Hämoglobingehalt der Lösungen, auf etwa 58% bzw. 56% seines Ausgangswerts ab, d.h., in der Gruppe A von 14,1% bis 8,2% und in der Gruppe B von 13,4% bis 7,6%.

Während die Gesamthämoglobinkonzentration sich bei den Tieren der Gruppe A im Vergleich zur 10 Minuten-Abnahme nicht signifikant verändert, sinkt bei den Tieren der Gruppe B die Gesamthämoglobinkonzentration 2 Stunden nach Austausch ab, und es verbleiben nach 4 Stunden 6,2%. Am 7. Tag unterscheidet sich die Hämoglobinkonzentration im Vollblut der Tiere von Gruppe A nicht wesentlich von dem am Versuchsende gemessenen Wert.

Die Plasmahämoglobinkonzentration der Hunde betrug nach Infusion der sechsprozentigen Hämoglobininlösung in beiden Kollektiven annähernd 3,7 g% und sank innerhalb der folgenden 4 Stunden kontinuierlich auf 2,1 g% bzw. 1,8 g% ab.

Am siebten Tag nach dem Versuch konnten im Plasma der Tiere von Gruppe A nur noch geringe Mengen Hämoglobin nachgewiesen werden. Über den Hämatokritwert und die Hämoglobinkonzentration im Vollblut und im Plasma nach dem Experiment können nur bei einem Hund aus Gruppe B, der langfristig überlebte, Aussagen gemacht werden. (Abb. I)

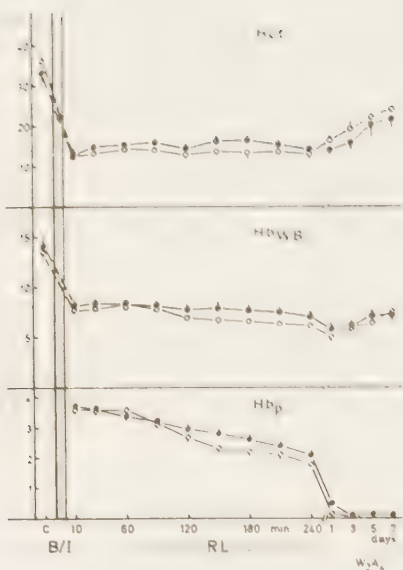


Abb. I Hämatokrit (Hct), Gesamthämoglobin- (Hb_{WB}) und Plasmahämoglobinkonzentration (Hb_P) vor und nach Blutaustausch

●—●: Gruppe A (Hämoglobinlösung von Warner Lambert)
 o—o: Gruppe B (Hämoglobinlösung Firma Biotest, Frankfurt am Main)

C = Kontrolle, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode
 RL = Ringers-Laktat-Infusion

3. Die hämodynamische Situation der Hunde vor, eine Minute und zehn Minuten nach dem Austausch

Die Herzfrequenz, die vor dem Versuch 161,7 bzw. 167,7 betrug, erreichte 1 Minute nach Infusionsende Werte von $102,8 \pm 7,0$ in Gruppe A und $108,5 \pm 9,9$ in Gruppe B. Im Verlauf der folgenden 10 Minuten erhöhte sie sich in beiden Kollektiven auf 125 Schläge pro Minute.

Das Herzzeitvolumen lag vor dem Blutaustausch in Gruppe A bei $202,9 \text{ ml/kg KG} \times \text{min}$. 1 Minute danach war es auf $185 \pm 16,8 \text{ ml/kg KG} \times \text{min}$ gesunken und fiel während der folgenden 10 Minuten weiter auf $182,8 \pm 15,2 \text{ ml/kg KG} \times \text{min}$ ab.

Im Gegensatz dazu stieg das Herzzeitvolumen der Hunde in Gruppe B deutlich an. Der Ausgangswert betrug hier $210 \pm 17,3 \text{ ml/kg KG} \times \text{min}$, der 1 Minute nach dem Eingriff gemessene Wert $263,4 \pm 26,0 \text{ ml/kg KG} \times \text{min}$. Auch nach 10 Minuten war er nur geringfügig (auf $258,3 \pm 28,5 \text{ ml/kg KG} \times \text{min}$) abgefallen.

Der arterielle Mitteldruck, der vor dem Versuch in beiden Gruppen etwa 147 mmHg betrug, sank durch den Blutverlust auf nahe 0 mmHg. Er stieg dann rasch an und erreichte nach 1 Minute Werte von 173 mmHg bzw. 153,7 mmHg. Nach 10 Minuten hatte er sich ungefähr auf die Höhe der Kontrollwerte eingependelt.

Der rechte Vorhofdruck fiel ebenfalls während der Entblutung etwa bis 0,3 mmHg ab, ging mit Einsetzen der Hämoglobininfusion sprunghaft in die Höhe und lag nach

1 Minute mit $6,3 \pm 0,6$ mmHg bzw. $7,8 \pm 0,7$ mmHg signifikant über den Ausgangswerten ($p < 0,01$, $p < 0,005$). Während sich in Gruppe A nach 10 Minuten die Werte mit $4,4 \pm 0,4$ mmHg wieder im Bereich der Kontrollwerte befanden, blieben sie in Gruppe B deutlich über dem Ausgangsniveau ($5,8 \pm 0,3$ mmHg, $p < 0,05$).

Auch der Druck in der Arteria pulmonalis und in den Lungenkapillaren nahm in beiden Gruppen nach der Infusion erheblich zu (siehe Tabelle). Doch während der Pulmonalisdruck nach 10 Minuten bis fast auf den Ausgangsbereich abgefallen war, blieben die Lungenkapillardrucke trotz leichten Absinkens weiterhin signifikant erhöht.

Der totale periphere Widerstand ändert sich in den ersten 10 Minuten bei den Tieren der beiden Versuchsgruppen nur unwesentlich. Bedingt durch die Herzzeitvolumina unterscheiden sich jedoch die 1 Minuten-Werte zwischen beiden Versuchsgruppen deutlich voneinander ($p < 0,05$).

Wie aus der Tabelle 4 zu entnehmen, blieb der Widerstand im Lungenkreislauf in der Gruppe A nahezu unverändert und hat nach 10 Minuten mit 0,043 PRU fast den Ausgangswert erreicht. In der Gruppe B dagegen fällt er innerhalb der ersten Minute von 0,056 auf 0,034 PRU ab und bleibt 10 Minuten lang auf diesem Niveau.

Tabelle 4:

Veränderungen der Herzfrequenz (HF), des Herzzeitvolumens (HZV), des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP), des zentralvenösen Druckes (ZVD), des Mitteldrucks in der arteria pulmonalis (PAP), des Lungenkapillardrucks (PCWP), des totalen peripheren Widerstands (TPR) und des pulmonal-vaskulären Widerstands (R pulm) vor, 1 min und 10 min nach Austausch.

		Gruppe A			Gruppe B		
HF (Schläge/min)	Kontrolle	161,7	+	8,8	167,7	+	3,4
	1 min.	102,8	+	7,0	108,5	+	9,9
	10 min.	125,3	+	6,7	125,0	+	10,2
HZV (ml/kg KG)	Kontrolle	202,9	+	23,2	210,2	+	17,3
	1 min.	185,0	+	16,8	263,4	+	26,0
	10 min.	182,8	+	15,2	258,3	+	28,5
MAP (mmHg)	Kontrolle	148,3	+	10,2	146,7	+	3,6
	1 min.	173,0	+	10,0	153,7	+	7,4
	10 min.	145,8	+	18,5	155,0	+	5,8
ZVD (mmHg)	Kontrolle	3,7	+	0,3	4,5	+	0,7
	1 min.	6,3	+	0,6	7,8	+	0,7
	10 min.	4,4	+	0,4	5,8	+	0,3
PAP (mmHg)	Kontrolle	14,9	+	0,8	17,6	+	0,9
	1 min.	18,6	+	1,3	23,2	+	1,4
	10 min.	15,5	+	1,2	19,1	+	1,1
PCWP (mmHg)	Kontrolle	5,2	+	0,7	6,5	+	1,0
	1 min.	11,3	+	2,2	13,9	+	1,3
	10 min.	7,8	+	0,9	10,3	+	1,1
TPR (PRU)	Kontrolle	0,79	+	0,14	0,70	+	0,05
	1 min.	0,95	+	0,12	0,59	+	0,09
	10 min.	0,81	+	0,14	0,64	+	0,06
R pulm. (PRU)	Kontrolle	0,047	+	0,008	0,056	+	0,006
	1 min.	0,038	+	0,003	0,034	+	0,005
	10 min.	0,043	+	0,013	0,035	+	0,003

4. Verhalten der Hämodynamik im weiteren Versuchsablauf

Der arterielle Mitteldruck beträgt, wie oben erwähnt, 145,8 mmHg bzw. 150 mmHg. In den folgenden 4 Stunden kommt es innerhalb der einzelnen Gruppen sowie im Vergleich beider Gruppen nur zu geringfügigen Änderungen, die sich nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Innerhalb der ersten 60 Minuten nach dem Blutersatz sinkt der Druck im rechten Vorhof, der nach 10 Minuten in der Gruppe A im Bereich der und in der Gruppe B über den Ausgangswerten lag, signifikant auf $2,7 \pm 0,4$ mmHg bzw. $3,3 \pm 0,5$ mmHg ab. Mit Hilfe der Ringers-Laktat-Lösung wurde er auf die Höhe der Kontrollwerte gebracht und über 3 Stunden durch weiteres kontrolliertes Infundieren konstant gehalten.

Nachdem bereits nach 10 Minuten der Druck in der Arteria pulmonalis auf Kontrollniveau gefallen ist, ändern sich in der Gruppe A die Werte über die Dauer des Versuchs nicht wesentlich. In der Gruppe B dagegen sinkt der PAP nach 60 Minuten von 19,8 mmHg auf 13,8 mmHg ($p < 0,001$). Durch die Ringers-Laktat-Infusion steigt er wieder an und verbleibt dann im Bereich der Kontrollwerte.

Der beim 10 Minuten-Wert noch erhöhte Lungenkapillardruck fällt im Laufe der folgenden 60 Minuten stetig bis auf den Bereich der Normwerte ab und bleibt dann im weiteren Beobachtungszeitraum stabil.

Während sich der pulmonale Strömungswiderstand in der Gruppe A im Verlauf des ganzen Versuchs kaum ändert, steigt er in Gruppe B von anfänglich deutlich niedrigeren Werten langsam an und hat erst nach 120 Minuten wieder die Höhe der Kontrollwerte erreicht.

Die Herzfrequenz, die nach 10 Minuten bei den Tieren beider Gruppen noch bei 120 Schlägen/Minute liegt, steigt innerhalb der ersten Stunde auf 150 Schläge/Minute bzw. 145 Schläge/Minute an und befindet sich damit im Normbereich. Im weiteren Verlauf ändert sie sich bei den Tieren der Gruppe B kaum (148 Schläge/Minute nach 4 Stunden). In Gruppe A steigt sie jedoch kontinuierlich bis auf 172 Schläge/Minute am Versuchsende an.

Das Herzzeitvolumen der Gruppe A, das in den ersten 10 Minuten auf 182 ml/kg KG x min abgesunken ist, beginnt nach Einsetzen der Ringers-Laktat-Infusion zu steigen und hat nach 240 Minuten 268 ml/kg KG x min erreicht. In der Gruppe B dagegen sinkt es - nach anfänglichem Anstieg - 60 Minuten nach Blutentzug und Substitution mit der Hämoglobinlösung geringfügig ab. Trotz der massiven Gabe von Ringers-Laktat-Lösung kommt es in dieser Serie im weiteren Versuchsablauf zu keiner wesentlichen Änderung des Herzminutenvolumens.

Analog zu den geringen Schwankungen der Herzminutenvolumina bleibt der totale periphere Widerstand über die Dauer des Versuchs in beiden Gruppen gegenüber den Ausgangswerten nahezu unverändert und konstant.

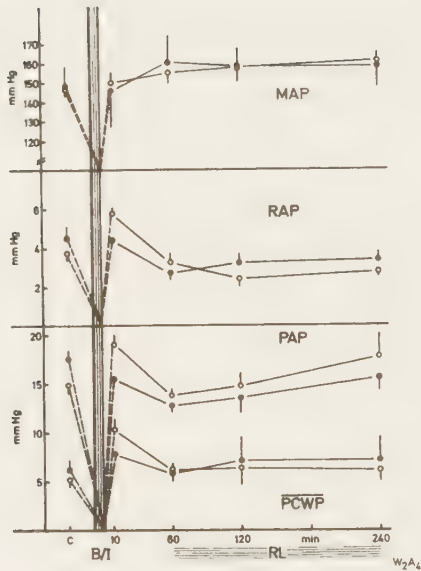


Abb. II Arterieller Mitteldruck (MAP), rechter Vorhofdruck (RAP), mittlerer Druck in der A. pulmonalis (PAP), mittlerer Druck in den Lungenkapillaren - Wedge-pressure - (PCWP) vor und nach Blutaustausch

●—●: Gruppe A
○—○: Gruppe B

C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode
RL = Ringers-Laktat-Infusion

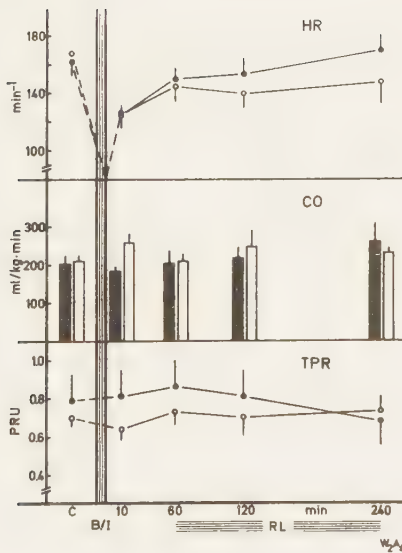


Abb. III Herzfrequenz (HR), Herzminutenvolumen (CO) und peripherer Gesamtwiderstand (TPR) vor und nach Blutaustausch.

Schwarze Punkte und schwarze Säulen: Gruppe A
 Weiße Punkte und weiße Säulen: Gruppe B

C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode
 RL = Ringers-Laktat-Infusion

5. Sauerstoffversorgung der Versuchstiere nach Entblutung und Infusion von stromafreiem Hämoglobin

Wie Abbildung IV zeigt, sind in beiden Gruppen die Sauerstoffpartialdrucke im arteriellen Blut nach Austausch und während des Versuchs gegenüber den Kontrollwerten nahezu unverändert. Der venöse Sauerstoffpartialdruck ist in beiden Gruppen die ganze Beobachtungszeit hindurch signifikant erniedrigt ($p < 0,001$ in Gruppe A, $p < 0,02$ in Gruppe B). Von anfänglich 54,8 mmHg ist er nach 10 Minuten in Serie A bereits auf 34,9 mmHg, in Serie B auf 42,4 mmHg abgefallen. Am Versuchsende beträgt er nur noch 29,6 mmHg bzw. 33,0 mmHg.

Der P_{50} -Wert ist der Sauerstoffpartialdruck, bei dem 50% der Hämoglobinmoleküle mit Sauerstoff gesättigt sind, und ein Maß für die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins. Nach Infusion der Hämoglobininlösungen, die einen in vitro gemessenen P_{50} von 16 mmHg aufwiesen, fielen die Werte in der ersten Stunde nach dem Austausch von 29,3 mmHg auf 22,9 mmHg ($p < 0,02$) in Gruppe A und von 31,3 mmHg auf 25,7 mmHg ($p < 0,02$) in der Gruppe B. Auch nach 240 Minuten waren die Werte mit 25,6 mmHg bzw. 26,4 mmHg wesentlich niedriger als die Kontrollwerte ($p < 0,05$, $p < 0,01$), und damit die Sauerstoffaffinität im Vollblut erhöht.

Der 2,3 DPG-Spiegel im Vollblut sank nach Austauschende von 23 $\mu\text{Mol/g Hb}$ auf 15 $\mu\text{Mol/gHb}$ ($p < 0,001$ in beiden Gruppen) und blieb im Laufe der vierstündigen Beobachtungsperiode trotz leichten Anstiegs deutlich erniedrigt ($p < 0,001$).

Am ersten Tag nach Versuchsende erreichte die 2,3 DPG-Konzentration in der Gruppe A mit 23,4 $\mu\text{Mol/g Hb}$ das Niveau der Ausgangswerte und blieb über 7 Tage lang konstant. Die Hunde der Gruppe B dagegen wiesen zum gleichen Zeitpunkt mit 29,3 $\mu\text{Mol/g Hb}$ einen signifikant höheren 2,3 DPG-Spiegel auf ($p < 0,02$). Über den weiteren Verlauf der 2,3 DPG-Konzentrationen im Vollblut nach dem ersten Tag können wegen der kurzen Überlebenszeit der Tiere keine Aussagen gemacht werden.

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich ist, war nach Austausch mit Hämoglobinlösung der Sauerstoffgehalt im arteriellen wie venösen Vollblut deutlich ($p < 0,001$) erniedrigt und sank in den folgenden 4 Stunden weiter ab. Die arteriovenöse Differenz des Sauerstoffgehaltes blieb jedoch in beiden Gruppen ungefähr konstant.

Tabelle 5

Veränderungen des Sauerstoffgehaltes im arteriellen und venösen Vollblut und Plasma, der arterio-venösen Differenz des O_2 -Gehaltes ($AVDO_2$ Cont VB bzw. Pl), des Herzminutenvolumens (HZV) und der arterio-venösen Sauerstoffsättigungsdifferenz des Gesamthämoglobins ($AVDO_2$ SAT) vor, sowie 10, 60, 120, 240 Minuten nach Austausch (VB = Vollblut, Pl = Plasma)

	G r u p p e A			
	Kontrolle	10	60	120
O_2 -Gehalt Vollblut art. (Vol %)	18,2 ± 1,5	10,0 ± 0,5	10,5 ± 0,6	9,8 ± 0,7
O_2 -Gehalt Vollblut ven. (Vol %)	14,1 ± 1,4	5,8 ± 0,6	6,3 ± 0,7	5,7 ± 0,5
$AVDO_2$ Cont VB (Vol %)	4,0 ± 0,5	4,2 ± 0,3	4,2 ± 0,2	4,1 ± 0,3
O_2 -Gehalt Plasma art. (Vol %)		4,6 ± 0,2	4,0 ± 0,2	3,4 ± 0,2
O_2 -Gehalt Plasma ven. (Vol %)		3,8 ± 0,2	3,5 ± 0,2	3,0 ± 0,2
$AVDO_2$ Cont Pl (Vol %)		0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1
HZV (ml/kg)	202,9 ± 23,2	182,8 ± 15,2	203,9 ± 32,3	216,9 ± 31,7
$AVDO_2$ SAT (%)	15,7 ± 2,5	28,9 ± 2,4	28,9 ± 2,1	29,8 ± 1,5
G r u p p e B				
O_2 -Gehalt Vollblut art. (Vol %)	17,3 ± 0,8	9,3 ± 0,4	10,4 ± 0,4	8,9 ± 0,4
O_2 -Gehalt Vollblut ven. (Vol %)	13,4 ± 1,3	5,7 ± 0,6	6,3 ± 0,4	5,1 ± 0,3
$AVDO_2$ Cont VB (Vol %)	3,9 ± 0,4	3,7 ± 0,4	4,1 ± 0,2	3,8 ± 0,5
O_2 -Gehalt Plasma art. (Vol %)		4,4 ± 0,3	3,4 ± 0,3	3,4 ± 0,2
O_2 -Gehalt Plasma ven. (Vol %)		4,4 ± 0,2	3,7 ± 0,2	2,8 ± 0,2
$AVDO_2$ Cont Pl (Vol %)		0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,1
HZV (ml/kg)	210 ± 17,3	258 ± 28,5	209,5 ± 13,1	248,1 ± 45,6
$AVDO_2$ SAT (%)	17,1 ± 2,3	26,6 ± 2,5	30,6 ± 2,1	27,0 ± 3,4

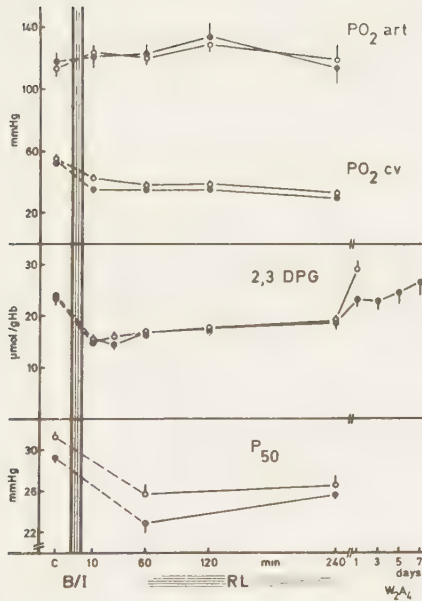


Abb. IV Arterieller pO_2 (PO_2 art), zentralvenöser pO_2 (PO_2 cv)

2,3 DPG-Konzentration und P_{50} im Vollblut vor und nach Blutaustausch

●—●: Gruppe A

○—○: Gruppe B

C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode

RL = Ringers-Laktat-Infusion

10 Minuten nach Entblutung und Hämoglobininfusion wies das Plasma im arteriellen Blut einen Sauerstoffgehalt von 4,6 Vol% bzw. 4,4 Vol% auf, fiel während des Versuchszeitraums stetig ab und erreichte am Ende $2,4 \pm 0,2$ Vol% bzw. $2,13 \pm 0,13$ Vol%.

Wie im arteriellen Plasma sank der Gehalt an Sauerstoff auch im venösen Plasma, in der Gruppe A von $3,8 \pm 0,2$ Vol% auf $2,1 \pm 0,2$ Vol%, in Gruppe B von $3,63 \pm 0,23$ Vol% auf $1,73 \pm 0,12$ Vol%.

Die Abbildung V zeigt die Veränderungen des Sauerstoffangebots, des Sauerstoffverbrauchs und die arteriovenöse Differenz des Sauerstoffgehaltes im Vollblut und Plasma vor und nach dem Austausch.

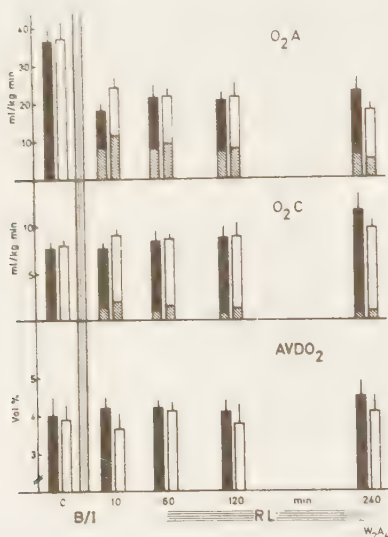


Abb V Sauerstoffangebot (O_2A), Sauerstoffaufnahme (O_2C) und arteriovenöse Sauerstoffsättigungsdifferenz ($AVDO_2$) vor und nach Blutaustausch.

schwarze Säulen: Gruppe A

weiße Säulen: Gruppe B

schraffierter Anteil der jeweiligen Säulen: Anteil des Plasmahämoglobins an Angebot und Aufnahme

C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode

RL = Ringers-Laktat-Infusion

Das Gesamtsauerstoffangebot, das sich aus dem Produkt von Sauerstoffgehalt des arteriellen Vollbluts und Herzzeitvolumen errechnet, fiel in der Gruppe A auf Grund des erniedrigten Sauerstoffgehaltes und des erniedrigten Herzzeitvolumens von $36,2 \pm 4,8$ (ml/kg x min) auf $18,2 \pm 1,8$ (ml/kg x min) ab und blieb im weiteren Versuchsablauf nahezu unverändert und deutlich erniedrigt.

Der Anteil des Plasmahämoglobins am Sauerstoffgesamtangebot betrug 10 Minuten nach Austausch 41% und nahm während der Beobachtungsperiode kontinuierlich ab. Nach 240 Minuten war das extraerythrozytäre Hämoglobin nur noch mit 27% am Sauerstoffangebot des Vollbluts beteiligt.

Auch in der Gruppe B sank das Angebot von $37 \pm 4,6$ (ml/kg x min) und blieb im weiteren Verlauf mit sinkender Tendenz wesentlich unter den Kontrollwerten. Wie bei der Gruppe A war der Anteil des Plasmahämoglobins von anfänglich 48% nach 240 Minuten auf 28% gesunken.

Im Gegensatz zum Sauerstoffangebot änderte sich der Sauerstoffverbrauch in beiden Gruppen vor und nach Austausch kaum. Der prozentuale Anteil des Plasmas an der Gesamtsauerstoffaufnahme dagegen sank innerhalb der Beobachtungszeitraums in der Gruppe A von 18% auf 7% und in B von 25% auf 11% ab .

Trotz stetigen Abfalls des Sauerstoffgehaltes im arteriellen und venösen Vollblut blieb die arteriovenöse Differenz - wie oben erwähnt - in beiden Kollektiven vor und nach Entblutung und Reinfusion unverändert. Die arteriovenöse Differenz der Sauerstoffsättigung dagegen (siehe Tabelle 5) erhöhte sich 10 Minuten nach dem Austausch in der Gruppe A von 15,7 auf 28,9% und in der Gruppe B von 17,1 auf 26,6% und stieg während des Versuches weiter an und lag in beiden Serien somit signifikant ($p < 0,01$) über dem Kontrollwert.

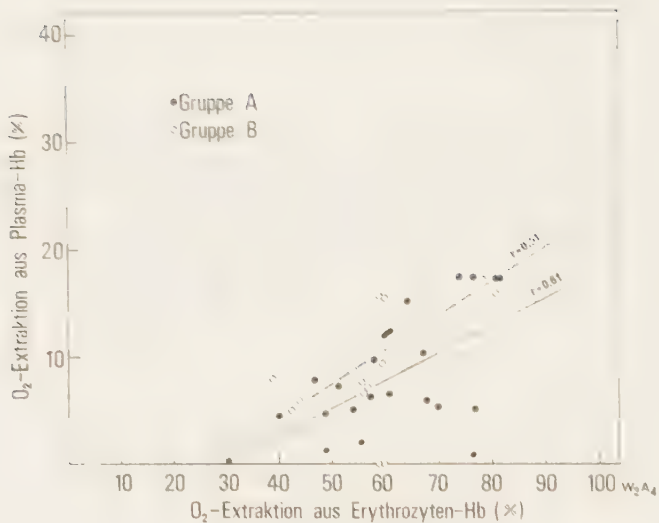


Abb. VI Korrelation zwischen den Sauerstoffextraktionen aus Erythrozyten- (Abzisse) und Plasmahämoglobin (Ordinate) nach Blutersatz mit stromafreier Hämoglobinlösung

In der Abbildung VI wurden für beide Serien die Sauerstoff-extraktionswerte aus Erythrozytenhämoglobin und Plasma gegeneinander aufgetragen. Wie aus der Graphik zu ersehen ist, beginnt das Plasmahämoglobin erst dann Sauerstoff abzugeben, wenn das Erythrozytenhämoglobin zu 40% entsättigt ist. Es besteht eine Tendenz, daß das wesentlich affinere extraerythrozytäre Hämoglobin umso mehr Sauerstoff abgibt, je mehr intraerythrozytäres Hämoglobin von Sauerstoff entsättigt ist.

6. Natrium- und Kaliumkonzentrationen im Serum und kolloidosmotischer Druck des Plasmas während und bis zu sieben Tagen nach dem akuten Versuch

Die Serumelektrolyte änderten sich im Laufe des Versuchs nicht wesentlich.

Der Abfall der Natriumkonzentration in der Gruppe B von 152,25 auf 143,88 mval/l 10 Minuten nach Versuchsbeginn muß auf die niedrige Natriumkonzentration der Lösung zurückgeführt werden. Schon nach 60 Minuten haben die Werte den Normbereich wieder erreicht.

Die Kaliumkonzentrationen sanken bei Gruppe A von 3,57 auf 2,85 mval/l ($p < 0,05$) ab und bei Gruppe B von 3,01 auf 2,62 mval/l ($p < 0,02$). Im Laufe des Beobachtungszeitraums stieg der Kaliumspiegel und erreichte nach 240 Minuten 3,67 bzw. 3,40 mval/l ($p < 0,005$, $p < 0,001$). Diese Werte sind, obwohl im Vergleich zur Kontrolle erhöht, noch immer im Normbereich.

Der kolloidosmotische Druck änderte sich nach dem Austausch nur unwesentlich, sank erst mit Beginn der Ringers-Laktat-Infusion deutlich ab und erreichte nach 240 Minuten in der Gruppe A 16 cm H_2O und in der Gruppe B 17,3 cm H_2O . Am ersten Tag post operationem befand sich der kolloidosmotische Druck in der Serie A wieder im Normbereich, während er in der Gruppe B noch deutlich unter den Kontrollwerten lag.

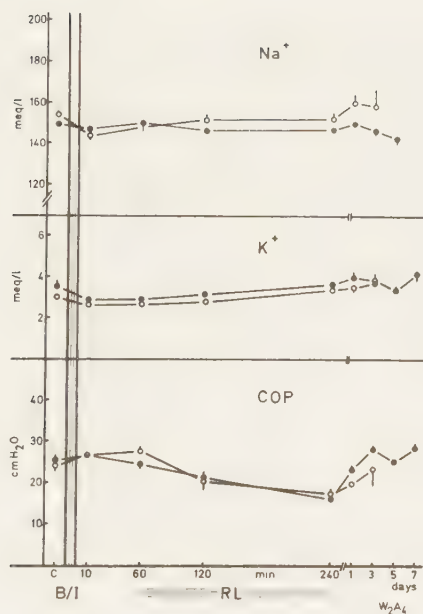


Abb. VII Natrium- (Na^+) und Kaliumkonzentration (K^+) im Serum sowie kolloidosmotischer Druck (COP) im Plasma vor und nach Blutaustausch

●—●: Gruppe A

○—○: Gruppe B

C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode,

RL = Ringers-Laktat-Infusion

7. Verhalten des pH, des $p\text{CO}_2$ und der Bikarbonatkonzentration während des Versuchs

10 Minuten nach Austausch wurde bei der Gruppe B ein pH-Abfall von 7,34 auf 7,25 ($p < 0,005$) und eine Erhöhung des CO_2 -Partialdrucks im zentralvenösen Blut von 44,2 auf 54,2 mmHg ($p < 0,02$) gemessen. Nach 60 Minuten befanden sich die beiden Parameter wieder im Normbereich und blieben auch weiterhin konstant.

Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die Werte der Gruppe A vor und nach dem Austausch nicht wesentlich voneinander.

Nach 240 Minuten stieg der pH von 7,34 auf 7,38 ($p < 0,05$) und der $p\text{CO}_2$ fiel von 44,6 mmHg auf 41,6 mmHg ab.

Die Bikarbonatkonzentrationen blieben in beiden Serien während der ganzen Versuchsdauer trotz einiger Schwankungen im Bereich der Kontrollwerte.

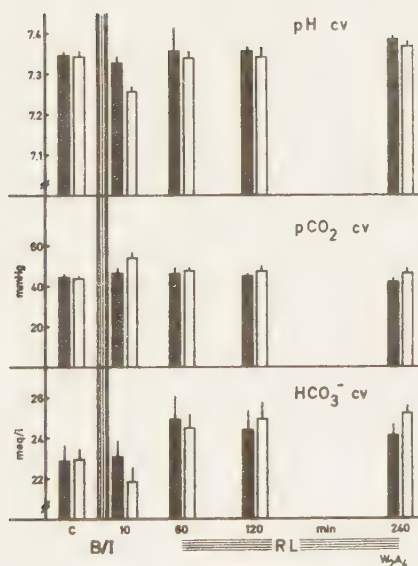


Abb. VIII Verhalten von pH (pH cv), pCO₂ (pCO₂ cv) und Standardbikarbonat (HCO₃⁻ cv) im zentralvenösen Blut vor und nach Blutaustausch
 schwarze Säulen: Gruppe A
 weiße Säulen: Gruppe B
 C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode,
 RL = Ringers-Laktat-Infusion

8. Veränderungen von Kreatinin- und Gesamtbilirubin- konzentrationen im Serum

Die Serumkreatininwerte der Hunde in beiden Gruppen zeigten keinen Anstieg. Eine relevante Beeinträchtigung der Nierenfunktion war somit nicht nachzuweisen.

Die hohe Plasmahämoglobinkonzentration hatte in der Gruppe A keine Störung des Bilirubinstoffwechsels zur Folge. Bei der Serie B konnten wir leider keine Schlußfolgerungen ziehen, da uns zu wenig Meßergebnisse zur Verfügung standen.

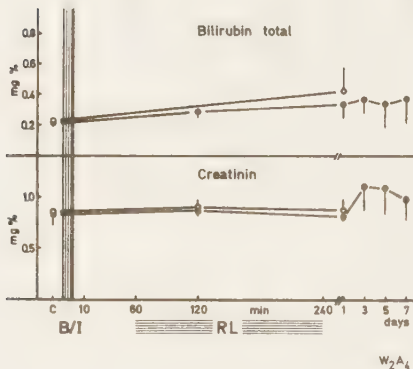


Abb. IX Veränderung der Gesamtbilirubin- und Kreatinin-
konzentration im Plasma vor und nach Blutaustausch

●—●: Gruppe A
○—○: Gruppe B

C = Kontrollwerte, B/I = Entblutungs-/Infusionsperiode,
RL = Ringers-Laktat-Infusion

9. Ergebnisse der Sektion und der pathologisch-histologischen Untersuchung

In Tabelle 6 sind die Sektionsergebnisse, die histologischen Befunde und die Überlebenszeit der Hunde zusammengestellt.

In der Gruppe A überlebten alle Hunde langfristig. Vier der sechs Tiere zeigten bei der Sektion dunkel hämorrhagische Flecken an beiden Lungen. Bei zweien dieser Hunde wurde histologisch eine konfluierende, zum Teil eitrig-pneumonische festgestellt, bei den beiden anderen könnte durch das Einführen des Swan-Ganz-Katheters das Lungengewebe verletzt worden sein. An den übrigen Organen konnten grobmorphologisch keine krankhaften Befunde erhoben werden.

Bei der Gruppe B hingegen starben drei Versuchstiere innerhalb der ersten 24 Stunden. Hier imponierten bei der Sektion ein glasiges Mesenterium, ödematöses Pankreas, dunkelrot verfärbte Nieren und eine blutigrote Gallenblase. Ein Hund erstickte nach drei Tagen an einem daumenendgliedgroßen Fleischstück, das sich im Kehlkopf verkeilt hatte. Ein weiterer verstarb nach drei Tagen ohne ersichtlichen Grund, so daß nur Hund 5 die siebentägige Beobachtungsperiode überlebte und danach eingeschläfert wurde. Die Lungen aller Hunde dieser Gruppe erschienen uns - bis auf einen Fall von Brochopneumonie - etwas atelektatisch, aber sonst unauffällig.

Pathologisch-histologische Veränderungen:

Wie bereits in der Methodik erwähnt, wurden den Hunden nach der Sektion Gewebsteile aus Herz, Niere, Lunge und Leber entnommen und zur histologischen Untersuchung durch Herrn PD Dr. K. Pielsticker an das Pathologische Institut der Universität München geschickt.

Das Myokard der Tiere beider Gruppen war in keinem Fall pathologisch verändert.

Die Nierenpräparate zeigten in der Gruppe A feinstäubige Eisenablagerungen im Bürstensaumbereich und bei einem Hund braunrote Hämoglobinzylinder in einigen Tubuluslumina. Zelluläre Degenerationen waren nicht festzustellen.

Bei den Hunden der B-Gruppe waren außer feinstäubigen Ablagerungen im Bürstensaum mehrfach die Tubuluslumina dilatiert und in den Glomeruli fanden sich retrograd prolabierte Hauptstückepithelien. Dieser Befund könnte auf eine Mangeldurchblutung hinweisen. Ansonsten waren wie auch in der A-Serie keine nephrotoxischen Veränderungen ersichtlich.

Die Beurteilung der Lebergewebsproben war problematisch, da eine hypoxische Verfettung oder Schädigung der Leberzellen nur schlecht von alimentär bedingten Veränderungen unterschieden werden kann. Beiden Gruppen war eine gering- bis mittelgradige Siderose der Sternzellen gemeinsam.

Bei drei der zehn Versuchstiere wurde eine konfluierende , zum Teil eitrig Bronchopneumonie festgestellt. Während sich in der Gruppe A nur bei zwei Hunden Megakaryozyten in den Lungenkapillaren befanden, wurden diese Megakaryozyten bei allen Versuchstieren der Gruppe B gefunden. Dies ist nicht verwunderlich, da durch das rasche Entbluten und die sofortige Infusion von Hämoglobinlösungen Megakaryozyten aus dem Knochenmark ausgewaschen werden, die dann in der Lunge hängen bleiben.

Nur bei jeweils einem Hund pro Gruppe fand sich zum Zeitpunkt der Sektion (7 Tage p. op.) ein geringgradiges Lungenödem. Da beide Hunde die Beobachtungsperiode überlebten, kann die Hämoglobinlösung nicht für das Ödem verantwortlich gemacht werden.

Tabelle 6

Zusammenfassung der Sektionsergebnisse und der pathologisch-histologischen Befunde bei den Hunden der beiden Gruppen.

Gruppe A	Sektionsbefund	Niere	Leber	Lunge	Herz	überlebenszeit (Tage)
Hund 1	O.B.	O.B. braunrote Zylinder in Tub.	Hepatozyten Schwellung Siderose	geringe Dystelektase	O.B.	7
Hund 2	Lunge rechts häorrhagische Flecken sonst O.B.	feinstäubige Siderose	Fettleber Sternzellsiderose	Bronchopneumonie	O.B.	3
Hund 3	Lunge rechts häorrhagische Flecken	S.O.	Hepatozyten- schwellung Hämosiderin- speicherung	Megakaryozyten- Stauung	Ödem hämosiderin- sp. Makroph.	7
Hund 4	Lunge l.). stark häorrhagisch	S.O.	feintropfige Verfettung Siderose	Bronchopneumonie	O.B.	6
Hund 5	O.B.	chron. interst. Entzündung sonst S.O.	Hepatozyten- schwellung	Dystelektase	O.B.	7
Hund 6		Rundzellinfiltr. im Mark	Feintropfige Verfettung	geringes Ödem	Myozytolysen	-

Gruppe B	Sektionsbefund	Niere	Leber	Lunge	Herz	über- lebenszeit (Tage)
Hund 1	Aszites, Pleuraerguß Lunge hämorrh. Niere dunkelrot	Tub. zellen vakuolig Tubuli dilatiert in Glomeruli retrograd prolabierte Haupt- stückepithelien	Fettleber Stauungshyperämie Siderose	Bronchitis Megakaryozyten	o.B.	1
Hund 2	Lunge fleckig rot	s.o.	Hepatoz.schwellung Verfettung, Leberödem	geringes Lungenödem	o.B.	3
Hund 3	Blutungen im Magen im Darm, Mesenterium glasig Nierenlager und Pankreas ödematös	o.B.	Verfettung, Siderose	Megakaryozyten	o.B.	1
Hund 4	Gallenblase hämorrh. Nierenbecken "	entzündl. Reaktion Hauptstückepi. pigmentiert	Hepatozyten- schwellung Eisenspeicherung	s.o.	o.B.	1
Hund 5	o.B.	s.o.	Hämosiderinsp. in Sternzellen	Lungenödem	o.B.	7
Hund 6	(am Fleischstück erstickt)		Histologie fehlt			

D. DISKUSSION

1. Abbau und Ausscheidung von freiem Hämoglobin im Blutkreislauf

Ein klinisch verwendbares Blutersatzmittel muß nach den Richtlinien des American National Research Council (101) über eine ausreichende Volumenwirksamkeit verfügen (intravasale Halbwertszeit mindestens 6 Stunden, möglichst 12 Stunden), in der Lage sein, Sauerstoff zu transportieren und ihn in ausreichendem Maße an das Gewebe abzugeben; ferner darf die Funktion der Organe nicht beeinträchtigt werden.

Da intraerythrozytäres Hämoglobin Sauerstoff reversibel binden kann, untersuchten schon in den dreißiger Jahren AMBERSON (2) sowie SALASKIN und KRIWSKY (126) die Möglichkeit, durch hämolysierte Rindererythrozyten in Ringers-Locke-Lösung ein Blutersatzmittel herzustellen, das Sauerstoff aufnehmen und an das Gewebe abgeben kann. Da diese Autoren nach Hämolysen der Erythrozyten deren Membrananteile nicht quantitativ entfernen konnten, kam es nach Infusion ihrer Präparate bei Katzen zu einer disseminierten intravasculären Coagulopathie, die zu schweren Gerinnungsstörungen und Nierenschäden führte (6, 56).

Erst 1967 fanden RABINER et al. (113) ein Verfahren Hämoglobinlösungen völlig von Stroma und dessen Bestandteilen zu reinigen.

In der Folgezeit versuchten zahlreiche andere Arbeitsgruppen durch veränderte Verfahren stromafreie Hämoglobininlösungen zu gewinnen, die die von der American Research Council geforderten Eigenschaften aufweisen.

Neben der Frage der Volumen- und Sauerstofftransporteigenschaften von stromafreier Hämoglobininlösung muß vordringlich das Problem der Verträglichkeit dieses möglichen Blutersatzmittels untersucht werden. Es ist daher zunächst zu prüfen, über welchen Mechanismus der Organismus verfügt, um unphysiologisch hohe Konzentrationen von freiem Hämoglobin zu bewältigen.

Die normale Hämoglobinkonzentration im Plasma beträgt beim Menschen bis zu 0,6 mg/100 ml (57). Nach einem massiven Blutverlust und dessen Ersatz durch stromafreie Hämoglobininlösung würde die Plasmakonzentration aber um das tausendfache erhöht werden.

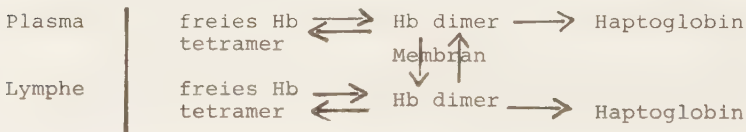
Bei unseren Versuchstieren stieg die Plasmahämoglobinkonzentration von Kontrollwerten, die denen beim Menschen entsprechen, auf nahezu 4g/100ml an.

Nach Infusion von stromafreier Hämoglobininlösung dissoziiert das tetramere Hämoglobinemolekül reversibel in zwei Dimere mit einem Molekulargewicht von 32000 (24). Der Anteil der dimeren Fraktion im Plasma beträgt unter physiologischen Bedingungen ein Viertel der Gesamtkonzentration der Hämoglobinemoleküle (53). Diese dimeren Proteine können ohne weiteres durch Membranen diffundieren, die für das tetramere Hämoglobin, Albumin oder Moleküle ähnlicher Größenordnung impermeabel sind (147). Tatsächlich erscheint Hämoglobin schon wenige Minuten

nach massiver Hämoglobinfusion, wie SUNDER-PLASSMANN et al. (145) und SZABO et al. (147) zeigen konnten, in der Lymphe des Ductus thoracicus. 60 Minuten nach Infusion sind die Hämoglobinkonzentrationen im Plasma und in der Lymphe nahezu identisch (145).

Sowohl im Plasma als auch in der Lymphe wird das dimere Hämoglobinmolekül an ein α_2 -Globulin, Haptoglobin genannt, gebunden (siehe unten) bis die Bindungskapazität von Haptoglobin überschritten ist.

Die erste Stufe der Verteilung von freiem Hämoglobin im Organismus kann wie folgt dargestellt werden:



2. Der Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex

Freies extraerythrozytäres Hämoglobin bzw. seine Derivate werden im Plasma primär an Proteine, nämlich Haptoglobin, Hämoexin und Albumin gebunden.

Haptoglobin ist ein Glykoprotein, dessen Anteil an der α_2 -Globulinfraktion etwa 15-30% beträgt. Es wird in der Leber synthetisiert (1) und besteht aus zwei α - und zwei β -Polypeptidketten, die untereinander durch Disulfidbrücken verbunden sind. Dieses Protein kann je nach Tierspezies 50-150mg/100ml freies Hämoglobin im Plasma binden; LATHEM gibt einen Mittelwert für Hunde von 128mg/100ml an (72, 73). Die äquimolare Bindung erfolgt haupt-

sächlich zwischen der α -Kette des Hämoglobins und der β -Kette des Haptoglobins, wobei die dimere Formation des Hämoglobins bevorzugt wird (22,98,99).

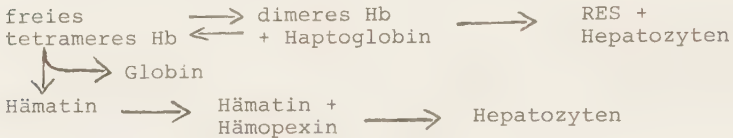
GARBY und NAYES (48) konnten zeigen, daß nach Injektion von geringen Mengen Hämoglobin der Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex rasch aus dem Plasma entfernt (Halbwertszeit im Plasma 10-30 Minuten) und in den Organen des RES wie Leber, Milz und Knochenmark abgelagert wird. Durch radioaktive Markierung des Hämoglobins mit Fe^{++} stellten GARBY und NAYES (48), sowie KEENE et al. (68) fest, daß 71% des gebundenen Hämoglobins in der Leber, etwa 21% im Knochenmark und etwa 8% in der Milz bleiben.

Steht für die Bindung von freiem Hämoglobin kein Haptoglobin mehr zur Verfügung, so dissoziiert ein Teil des nicht gebundenen Hämoglobins in das Häm und die Protein-komponente. Ein freier Austausch von Häm und intakten Hämoglobinmolekülen ist in geringem Umfang sogar physiologisch (20) . Diese Hämgruppen werden zu Hämatin, einem Hämderivat mit dreiwertigem Eisen, oxidiert, das dann von Hämoexin oder Albumin gebunden werden kann.

3. Der Hämatin-Hämoexin-Komplex

Hämoexin ist ein Glykoprotein, das normalerweise in einer Konzentration von 50-100 mg/100ml im menschlichen Plasma vorliegt. Es wird ausschließlich in der Leber gebildet (155) und besteht aus einer einzigen Polypeptidkette (96). Ein Mol dieses Proteins vermag ein Mol Hämatin zu binden. Nach der Bindung mit dem Hämderivat verläßt

dieser Komplex im Vergleich zu der Hämoglobin-Haptoglobin-Verbindung den Intravasalraum wesentlich langsamer (Halbwertszeit 7-8 Stunden) (128) und lagert sich dann in den Hepatozyten ab (97).



Steht Hämderivaten kein freies Hämoexin zur Verfügung, so bilden sie mit Albumin einen Methämalbuminkomplex. Das Methämalbumin wird relativ langsam aus dem Plasma eliminiert, die Halbwertszeit beträgt beim Menschen 20 Stunden (128). Obwohl die Affinität des Hämatin zu Albumin im Vergleich zu Hämoexin gering ist, liegt es auf Grund der hohen Albuminkonzentration und der langen intravasalen Verweildauer des Methämalbuminkomplexes zum größten Teil als Methämalbuminverbindung vor (128). Jedoch hat der Methämalbuminkomplex eine so hohe Sauerstoffaffinität, daß er selbst hypoxische oder anoxische Gewebe nicht mit Sauerstoff versorgen kann (40).

4. Katabolismus des gebundenen Hämoglobin und der Hämatin-Protein-Komplexe

70% der Hämoglobin-Haptoglobinkomplexe lagern sich nach kurzer intravasaler Verweildauer in den Hepatozyten und in den Kupfferschen Sternzellen ab. Durch radioaktive Markierung des Hämoglobinmoleküls konnte HERSCHKO zeigen, daß dabei 94% der Aktivität in den parenchymalen Zellen liegt (59). Darüber hinaus wiesen BISSFLL et al. nach (12),

daß nach Infusion von Hämoglobinlösung die Aktivität der mikrosomalen Hämoxxygenase in den Leberzellen gesteigert ist. Das bedeutet, daß bevorzugter Ort des Abbaus von Hämoglobin-Haptoglobin die Hepatozyten und nicht die Zellen des RES sind. Das gilt in gleicher Weise für die Hämatin-Hämoexin- und die Methämalbuminverbindungen (60).

Das durch den Abbau des gebundenen Hämoglobins zu Bilirubin frei werdende Eisen wird zu 95% in den Hepatozyten eingelagert und nur langsam an den Organismus abgegeben (102). Durch eine hohe Hämoglobinkonzentration im Plasma, wie man sie nach Infusion von Hämoglobinlösungen findet, könnte es daher zu einer Eisenüberlastung der Leberzellen kommen (60). Dies würde ihre Funktion beeinträchtigen und könnte damit in der kritischen Situation des hämorrhagischen Schocks oder des prolongierten Blutverlustes eine zusätzliche Belastung für den Organismus bedeuten.

5. Filtration, Abbau und Ausscheidung von freiem Hämoglobin durch die Niere

Die Nieren sind normalerweise am Abbau von Hämoglobin nicht beteiligt. Bei hohen Konzentrationen an freiem Hämoglobin im Plasma jedoch kommt es zu verändertem Katabolismus und veränderter Ausscheidung des Hämoglobins.

Wie oben beschrieben, wird das Plasmahämoglobin zunächst an Haptoglobin gebunden. Ist die Bindungskapazität dieses Plasmaproteins erschöpft, so finden sich wie KEENE und JANDL an haptoglobinfreien Ratten feststellten, 50% des

infundierten Hämoglobins in den Zellen der proximalen Tubuli der Niere wieder. Die andere Hälfte des Hämoglobins wird wie der Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex hauptsächlich von den Leber- und Knochenmarkszellen aufgenommen (68).

Hämoglobin in seiner tetrameren Form (24) sowie die Hämoglobin-Haptoglobin-Verbindung (71) können auf Grund des hohen Molekulargewichtes nicht glomerulär filtriert werden. Die dimeren Anteile jedoch können auf Grund ihres Molekulargewichtes von nur 32000 (s.o.) (24) durch die Basalmembranen der Glomeruli filtriert werden. Ein Teil dieser Dimere wird durch Pinozytose in den Zellen der proximalen Tubuli aufgenommen (106), wobei die maximale Aufnahmekapazität für Hämoglobin ähnlich wie für Glukose und Aminosäuren bei 90-120 mg/min liegt (33). Übersteigt die filtrierte Menge diese Schwelle, so wird Hämoglobin im Urin ausgeschieden.

Schon 1965 stellte ERICSON (39) auf Grund von morphologischen Studien an Ratten fest, daß sich nach der renalen Filtration von Hämoglobin in den Tubuluszellen des proximalen Konvolutes absorbiertes Hämoglobin in Form von benzidinpositiven Tropfen befindet. Die Tropfen verschwanden innerhalb von 2-3 Stunden, und nur noch eisenpositive Granula oder Ferritin (39) konnten über einen längeren Zeitraum nachgewiesen werden. BUNN und Mitarbeiter konnten diese morphologischen Ergebnisse durch Stoffwechseluntersuchungen mit radioaktiv markiertem Hämoglobin an Ratten bestätigen (25).

Das Globin wird durch ein lysosomales Enzymsystem in der Zelle rasch zu Aminosäuren abgebaut und verläßt die Zelle. Schon nach weniger als einer Stunde sind in den Tubuszellen nur noch 50% des Globins nachweisbar. (25).

Die Geschwindigkeit des Abbaus der Hämgruppen hängt von der Aktivität der Hämoxygenase, eines mikrosomalen Enzymkomplexes, ab (106,152). Die Konzentration dieser Hämoxygenase ist in Organen, die normalerweise am Hämoglobinstoffwechsel beteiligt sind, wie Milz, Leber und Knochenmark, am höchsten (150), und richtet sich nach dem Substratangebot. Das bedeutet, daß die Enzymaktivität in Leber, Milz und Knochenmark bei einem vermehrten Anfall von Hämoglobin entsprechend ansteigt. TENHUNEN et al. (151) stellten fest, daß bei splenektomierten Ratten der durch die Entfernung der Milz bedingte Enzymverlust durch die Konzentrationserhöhung der Hämoxygenase in der Leber völlig kompensiert werden kann.

Die Niere besitzt ganz geringe Mengen dieses Enzyms und spielt unter physiologischen Bedingungen im Hämoglobinstoffwechsel keine Rolle (151). Wird jedoch nach Infusion einer Hämoglobinlösung dieses renal filtriert, so kommt es zu einem schnellen Anstieg der renalen Hämoxygenaseaktivität. PIMSTONE et al. (109) injizierten Ratten 30 mg/100g KG radioaktiv markiertes Hämoglobin und fanden, daß die Aktivität der renalen Hämoxygenase in den proximalen Tubuluszellen nach einer kurzen Übergangszeit rasch anstieg und nach 6-16 Stunden ein Maximum erreichte. Nach 48 Stunden lag die Aktivität wieder im Bereich der Basalwerte. Wie weitere Untersuchungen zeigten, wird dieser Enzymkomplex nicht durch intravasales, sondern nur durch Hämoglobin, das sich in den Tubuluslumina des Nephrons befindet, stimuliert (110).

Unter Abspaltung von Eisen katalysiert die Hämoxigenase die Oxidation des Häm in äquimolare Anteile von Biliverdin und Kohlenmonoxid. Biliverdin wird dann durch eine Biliverdinreduktase zu Bilirubin umgewandelt, das nicht nur in das Plasma, sondern auch direkt in den Urin ausgeschieden wird (151). Das abgespaltene Eisen wird in den proximalen Tubuluszellen in Form von Ferritin gespeichert und nur langsam freigesetzt (25). BUNN et al. stellten fest, daß sich mehr als 50 % des gespeicherten Eisens noch nach 30 Tagen in den Nieren befanden (25).

Es wird entweder über den Urin ausgeschieden (25), oder nach REGER et al. (116), in Form von Eisenmicellen dem Körper zur Wiederverwertung zugeführt.

Wenn die Menge des filtrierte Hämoglobins die Absorptionskapazität der proximalen Tubuluszellen überschreitet, wird es mit dem Urin ausgeschieden. Die Hämoglobinurie kann bereits wenige Minuten nach massiver Infusion nachgewiesen werden (145). Der Urin enthält nur freies ungebundenes Hämoglobin und keine Protein-Hämoglobinkomplexe. Elektrophoretisch unterscheidet sich dabei das Hämoglobinmolekül nicht vom Plasmahämoglobin, d.h., das Hämoglobin liegt wieder in der tetrameren Form vor (145). Ein Ansteigen der Hämoglobinkonzentration im Plasma über die Nierenschwelle erhöht die Clearancerate der Niere, die ihr Maximum bei einer Plasmakonzentration von 250mg/100ml erreicht. Weitere Erhöhungen der Plasmakonzentration führen zu keinem Anstieg der Clearancerate (91).

Dies würde bei unseren Versuchen die hohe Plasmakonzentration an Hämoglobin am Versuchsende erklären. Sie beträgt nach 240 Minuten noch 57% bzw. 48% der 10 Minuten nach dem Austausch vorhandenen Hämoglobinkonzentration.

Die Hämoglobinausscheidung im Urin dagegen - beim Hund durchschnittlich 1,23mg/min (91), beim Menschen bis zu 4mg/min (18) - verhält sich direkt proportional zur Plasmahämoglobinkonzentration, selbst wenn diese das 13-fache des Nierenschwellenwertes übersteigt.

Insgesamt werden so innerhalb von 240 Minuten 30-40% der infundierten Hämoglobinmenge über die Niere ausgeschieden (11,72,73), wie BIRNDORF und LOPAS (11) bei Affen (*Macaca irius*) und SUNDER-PLASSMANN (145) bei Hunden feststellen konnten.

RUDOWSKI et al. konnten zeigen, daß innerhalb von 3 Stunden die Versuchshunde 25% des infundierten Hämoglobins im Urin ausgeschieden hatten (123).

RELIHAN und LITWIN infundierten Hunden mit normaler Nierenfunktion 250ml Hämoglobinlösung und stellten fest, daß im Laufe von 6 Stunden 60% der infundierten Dosis an Hämoglobin im Urin nachgewiesen werden konnten (117). Hunde die nach Gabe von Ammoniumchlorid eine metabolische Azidose entwickelt hatten, schieden dagegen in 6 Stunden nur 48% des in gleicher Menge infundierten Hämoglobins aus (119). Noch niedriger war der Prozentsatz (28%) nach 30 Minuten renaler Ischämie und nachfolgender SFH-Infusion (118).

Bei massivem hämorrhagischen Schock kommt es auf Grund der Vasokonstriktion und der veränderten Blutrheologie zu einer erheblichen Minderdurchblutung der Gewebe, vor allem in der Niere, gleichzeitig entwickelt sich eine metabolische Azidose. Es ist daher anzunehmen, daß im Volumenmangelschock bei Volumensubstitution mit Hb-lösung das freie Hämoglobin wesentlich langsamer durch die Niere ausgeschieden wird und dadurch länger für den O_2 -Transport zur Verfügung stehen müßte.

6. Nierenverträglichkeit von SFH

Die Nephrotoxizität von Hämoglobinlösungen war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und Experimente, da bekannt war, daß eine massive intravasale Hämolyse stets ein akutes Nierenversagen zur Folge hat. Schon 1875 stellte PONFICK fest, (111), daß Kaninchen nach Infusion von Hämolysat ein akutes Nierenversagen entwickelten.

Als Gründe hierfür wurden angenommen:

1. Durch Hämprotein kommt es zur Obstruktion von Nierentubuli und Zellschädigungen.
2. Hämproteine wirken vasokonstriktorisch auf die Nierengefäße. Dies führt zu einer Ischämie und damit zu einer Nekrose der Tubuluszellen.
3. Hämproteine und ihre Abbauprodukte schädigen direkt die Tubuli der Niere (19).
4. Anteile der Erythrozytenmembranen, die sich nach Hämolyse noch in den Lösungen befinden, führen zu einer Obstruktion der Tubuli.

Deshalb versuchten verschiedene Wissenschaftler (Levy 1904, Barret und Yorke 1909, Baker und Dodds 1925) durch Filtration und Zentrifugieren des Hämolysats die Stromaanteile aus der Lösung zu entfernen. Diese Hämoglobinslösungen führten dann auch tatsächlich weniger häufig zu Nierenschäden. BAKER und DODDS (5) injizierten Kaninchen, die auf Grund einer speziellen Diät Urin mit niedrigem pH ausschieden, 10ml dieser Hämoglobinslösung und stellten fest, daß die Versuchstiere ein

Nierenversagen entwickelten. Die histologische Untersuchung der Nieren der Tiere ergab eine allgemeine Obstruktion der distalen Nierentubuli durch massive Ablagerungen von Hämoglobin.

BADENOCH und DARMADEY (4) klemmten bei Kaninchen die linke Nierenarterie ab, nachdem sie die Versuchstiere rechts nephrektomiert hatten. Nach Wiedereröffnung der Nierenarterie injizierten sie den Tieren einer Gruppe 10ml Hämoglobininlösung und beobachteten, daß 85% dieser Tiere an einem akuten Nierenversagen verstarben. Durch Dehydratation und nachfolgende Gabe von Hämoglobininlösung konnten YORKE und MALUF (77) beim Kaninchen ebenfalls schwere Nierenschäden nachweisen.

Heute wissen wir, daß nicht das Hämoglobin per se, sondern Lipidanteile der Erythrozytenmembran, die in früheren Jahren nur teilweise entfernt werden konnten, für diese Nierenschäden verantwortlich sind (11, 18,91). Der isoelektrische Punkt dieser Membrananteile liegt bei pH 5,8; sie fallen bei einem pH des Urins von weniger als 6,4 aus und bewirken damit eine Obstruktion der Tubuli mit konsekutivem Nierenversagen (106).

RABINER et al. gelang es erstmals, eine wirklich stromafreie Hämoglobininlösung herzustellen, indem sie die Lösung aus Humanerythrozyten nach osmotischer Hämolyse mehrmals zentrifugierten, filtrierten und unter Druck dialysierten (siehe Methodik). Diese stromafreie Hämoglobininlösung wurde Hunden im Austausch gegen Vollblut infundiert, wobei der Hämatokrit der Tiere innerhalb von 120 Minuten auf 10% gesenkt wurde. Weder durch Prüfung der Nierenfunktion (Creatinin-Harnstoff- und PAH-Clearance) während

des Versuchs, noch durch histologische Untersuchungen des Nierengewebes 6-8 Wochen nach dem Versuch konnten toxische Auswirkungen dieser Hämoglobinlösung auf die Niere nachgewiesen werden (113,114,115).

RELIHAN und LITWIN bestätigten diese Ergebnisse RABINER'S et al. und konnten darüber hinaus nachweisen, daß bei Hunden, die nach Gabe von Ammoniumchlorid eine chronische metabolische Azidose entwickelt hatten, SFH keine nephrotoxische Wirkung hatte. Auch 30 Minuten renale Ischämie und nachfolgende SFH-Infusion schädigten die Niere nicht. (117,118,119)

PESKIN et al. (107) infundierten Hunden, nachdem diese für 48-72 Stunden dehydriert worden waren, 25ml/kg KG Hämoglobinlösung und prüften den Effekt der Hämoglobininfusion auf die Nierenfunktion ebenfalls durch Messung von Creatinin-, Harnstoff- und PAH-Clearance. Bei drei Hunden wurde mit der Goldblatt-Technik die Nierenarterie eingengt, so daß der poststenotische Blutdruck auf die Hälfte des systemischen arteriellen Blutdrucks absank. Nach Abfall des renalen Blutdrucks wurden den Versuchstieren ebenfalls 25ml/kg KG SFH infundiert, und ihre Wirkung auf die Niere in gleicher Weise wie bei den Dehydrationsversuchen untersucht. Die gleichen Nierenfunktionsprüfungen wurden auch bei drei Hunden durchgeführt, denen nach hämorrhagischer Hypotension (MAP = 30 mmHg ca. eine Stunde lang) 25ml/kg KG Hämoglobinlösung infundiert worden waren.

In keinem der drei Versuche konnten PESKIN et al. eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion oder morphologische Schäden am Nierengewebe feststellen (107).

BIRNDORF et al. und UNSELD untersuchten die renale Auswirkung von Hämoglobin an Affen bzw. Zwergschweinen.

BIRNDORF et al. tauschten bei *Macaca irius*-Affen 25% des errechneten Blutvolumens gegen SFH-Lösung aus und bestimmten die PAH- und die Inulin-Clearance vor und 90 Minuten nach der SFH-Infusion und zwischen dem ersten und fünften Tag postexperimentell; ferner kontrollieren sie das Urinvolumen 20, 60, 120 und 240 Minuten nach Infusion der Hämoglobinlösung (11).

UNSELD entnahm Zwergschweinen 27 ml/kg KG Blut, nachdem der MAP über 3 Stunden auf 40 mmHg gesenkt wurde, und ersetzte das entzogene Blutvolumen mit sechsprozentiger Hämoglobinlösung. Die Nierenfunktion wurde an Hand der endogenen Kreatininclearance, des Urinvolumens und der osmolaren Clearance geprüft (156).

Beide Autoren konnten feststellen, daß SFH die Nierenfunktion nicht beeinträchtigte.

Diese günstigen Befunde konnten jedoch von verschiedenen anderen Autoren nicht bestätigt werden.

BURK und Mitarbeiter infundierten Kaninchen innerhalb von 20 - 50 min jeweils 1,8 g Hb/kg KG einer sechsprozentigen stromafreien (Fa. Biotest Frankfurt) oder aus verfallenen Humanerythrozyten hergestellten stromahaltigen Hb-Lösung. Gemessen wurden die Veränderungen von Kreatinin, Harnstoff, K^+ und Na^+ im Serum, außerdem untersuchten sie die Niere histologisch. Die Autoren stellten fest, daß die Tiere beider Gruppen am 3. Tag post infusionem typische Zeichen eines akuten Nierenversagens aufwiesen. Bei der

pathologisch-histologischen Untersuchung fanden sich mit annähernd gleicher Häufigkeit in beiden Serien (8 von 9 Tieren bei SFH-Infusion, 10 von 11 Tieren bei Infusion von stromahaltiger Hb-Lösung) Chromoproteidzyylinder in Nierenrinde, -Außenzone und Mark, außerdem Tubulusnekrosen und ausgedehnte hypoxische Vakuolen in allen Abschnitten des Nephrons. Das Gewicht derart veränderter Nieren war deutlich erhöht (26).

SCHNEIDER und Mitarbeiter (136) verabreichten 21 Wistar-Ratten durch Infusion einer 6%igen SFH-Lösung innerhalb von 3 Stunden jeweils 1000 mg Hämoglobin und untersuchten anschließend licht- und elektronenmikroskopisch Leber, Niere, Milz und Myokard.

Unmittelbar nach der Infusion fanden sich zahlreiche Hämoglobinzyylinder in den Nierentubuli, die bis zum achten Tag nachweisbar waren. Ferner traten während der ersten Tage Nekrosen einzelner Tubulusepithelien mit zahlreichen Mitosen auf.

Funktionelle Untersuchungen zum Hämoglobinabbau an ischämisch geschädigten Tubuli bei Wistarratten, die SCHUBERT und Mitarbeiter durchführten (137), ergaben, daß besonders schwere Nierenschädigungen dann auftraten, wenn die Organe unmittelbar nach der Hämoglobininjektion, also im Stadium der stärksten Hämoglobinurie und aktivsten tubulären Hämoglobinaufnahme der Ischämie ausgesetzt waren.

Alle drei Autoren verwendeten, wie in den vorliegenden Untersuchungen bei Gruppe B, eine von Bonhard (Biotest-Serum-Institut, Frankfurt) hergestellte SFH-Lösung (26,136,137).

Der Einfluß von SFH auf die Proteinausscheidung im Urin wurde von DE SCHEPPER und VON DER STOCK (132) bei Hunden untersucht. Sie wiesen nach, daß gleichzeitig mit einer Hämoglobinurie auch die renale Proteinausscheidung deutlich ansteigt. Sie korreliert direkt ($r = 0,88$) mit dem Ausmaß der Hämoglobinurie. Nach Beendigung der Hämoglobinausscheidung durch die Nieren, sank auch die Proteinkonzentration im Urin ab; nach vier Stunden lag sie wieder bei 4 ± 1 mg/h. Die Phenolrot-Ausscheidung und die Kreatinin-Clearance verblieben dagegen innerhalb der ganzen Versuchszeit im Normbereich (132).

Interessanterweise zeigte die elektrophoretische Auftrennung des Urins, daß 12,4% der Proteine nicht aus Hämoglobin und dessen Abbauprodukten stammen können. Das elektrophoretische Muster entsprach dem einer tubulären Proteinurie. Nach DE SCHEPPER et al. gibt es dafür drei mögliche Erklärungen:

1. Proteinverluste bei geschädigten Glomeruli,
2. fehlende Reabsorption im proximalen Tubulus,
3. abnorm hohe Eiweißverluste der Zellen im distalen Abschnitt des Nephrons (sogenannte "Histurie") (58).

Für diesen letzten Punkt sprechen folgende Befunde: Die renale Albuminausscheidung der Tiere war unverändert (131); die unbekannte Proteinfraktion im Urin wies die gleiche elektrophoretische Mobilität und Extinktion (280 nm) auf wie die γ -Proteinfraktion des Nierengewebes (79); vergleichbare Proteinfraktionen konnten im Plas-

ma nicht gefunden werden.

Das würde bedeuten, daß es durch Hämoglobinurie zu einer reversiblen Schädigung der distalen Tubuluszellen kommt, die durch die übliche klinische Funktionsdiagnostik der Niere nicht erfaßt wird.

Eine Schlüsselrolle in der Entstehung einer Nierenschädigung nach massiver Hämoglobininfusion nimmt nach BURCK et al. das Hämprotein Hämatin ein (26). Nicht an Haptoglobin gebundenes Hämoglobin oxidiert entweder zu Methämoglobin oder der primär dissoziierte Hämanteil wird zu Hämatin oxidiert (21).

Hämatin allein und in geringen Mengen führt nicht zu Oligurie und Tubulusnekrosen, wie LITWIN und Mitarbeiter feststellten (74). Sind die Nieren jedoch ischämisch vorgeschädigt, kommt es regelmäßig zum Nierenversagen. Die Membran einer hypoxisch geschädigten Tubuluszelle reabsorbiert auf Grund der erhöhten Permeabilität einen größeren Anteil des Filtrats in den Tubuli (74). Nach BRAUN (19) kann damit auch das um den Faktor 100 kleinere Hämatinmolekül in die geschädigte Zelle eindringen und direkt nephrotoxisch wirken. Welcher zellschädigende Mechanismus durch Hämatin in Gang gesetzt wird, ist unklar.

Bei Trauma, Blutverlust oder ausgedehnten Operationen, d.h., Situationen, in denen die Anwendung von SFH als Blutersatz indiziert wäre, entwickelt sich oft eine metabolische Azidose. Sie führt zur Ausscheidung sauren Urins. Fällt der pH in den Tubuli unter 5,5, so ist eine

Hämatinurie nachweisbar. Steigt der pH des Urins in den Sammelrohren wieder auf 6,5 an, so fällt Hämatin aus und bewirkt nach Ablagerung eine Obstruktion der Lumina (80).

Nach Ischämie und bei metabolischer Azidose ist somit mit einer Hämatin-bedingten Schädigung der Tubuluszellen zu rechnen; für den Patienten würde dies eine weitere Einschränkung der bereits reduzierten Nierenfunktion bedeuten.

7. Hämoglobinabbau in der Leber

Freies Hämoglobin sowie Häm-Protein-Komplexe (Hämoglobin-Haptoglobin, Hämatin-Hämopexin, Methämalbumin) werden nach unterschiedlicher Verweildauer (45) im Plasma zumeist in den Heptatozyten abgelagert. Sie erscheinen zuerst in zytoplasmatischen Vakuolen (140), die aber auf Grund der fehlenden Enzymaktivität nicht in der Lage sind, das Hämoglobin abzubauen. Diese Vakuolen verdichten sich, und ein Teil bildet zusammen mit Lysosomen enzymaktive Phagolysosomen, in denen der Globinanteil katabolisiert wird. Die Hämfraktion wird durch das mikrosomale Hämoxygenase-System, das sich in Leber, Knochenmark und Milz und nach Hämoglobinurie auch in der Niere befindet, über Biliverdin zu Bilirubin reduziert (100,150,153).

Der enzymatische Abbau von Hämoglobin und Häm-Proteinen in der Zelle wird vom Ausmaß der Dissoziation der Hämoglobin-Moleküle bestimmt (154). Durch die Abspaltung der Hämfraktion steigt die Aktivität der Hämoxygenase. Das bedeutet, daß Moleküle, an die der Hämanteil nur locker gebunden ist, wie z.B. bei Methämalbumin oder bei α - und β -Ketten des Hämoglobins, den Enzymkomplex stimulieren. Oxyhämoglobin, entsättigtes Hämoglobin oder haptoglobingebundenes Hämoglobin, d.h. stabile Hämoglobinverbindungen, sind dagegen als Substrat fast völlig inaktiv. (154)

MÜLLER-EBERHARD und Mitarbeiter stellten fest, (95), daß Hämopexin fähig ist, das Hämoxygenasesystem zu aktivieren, obwohl es eine größere Affinität zu Hämatin hat als zu Albumin.

Die enzymatische Umwandlung von Häm zu Bilirubin erfolgt in zwei Schritten. Im ersten Schritt wird Häm in Biliverdin IXa überführt. Diese Reaktion ist für die Geschwindigkeit des Abbaus bestimmend. Biliverdin wird dann mittels der NADPH^+ -abhängigen Biliverdinreduktase zu Bilirubin reduziert. Insgesamt werden für die Oxidation von 1 mol Häm zu 1 mol Bilirubin 3 mol Sauerstoff und 5 mol NADPH^+ verbraucht (154).

OSTROW und Mitarbeiter beobachteten, nachdem sie Ratten radioaktiv markiertes Hämoglobin in Dosierungen von 3 - 60 mg/kg KG intravenös appliziert hatten, daß erst 30 - 40 Minuten nach Hämoglobininjektion radioaktives Bilirubin in der Gallenblase nachgewiesen werden konnte. 118 - 170 Minuten nach Hämoglobingabe waren 50% des durch den Hämoglobinabbau entstandenen Bilirubins ausgeschieden. Nach 22 Stunden befand sich das gesamte markierte Hämoglobin in Form von Bilirubin in der Gallenblase (104).

Lag dagegen die initiale Hämoglobinkonzentration der Versuchstiere über der errechneten Haptoglobin-Bindungs-kapazität, so konnten nur 60 - 70% des Hämoglobins als Bilirubin nachgewiesen werden. Diese Diskrepanz, die auch von SNYDER und SCHMID und von WITH festgestellt wurde, läßt vermuten, daß ein Teil des Hämoglobins zu noch unbekannten Abbauprodukten katabolisiert wird (104,139,159).

Drei mögliche Abbauewege werden in diesem Zusammenhang diskutiert:

1. Häm wird direkt durch Enzymsysteme oder andere Abbauvorgänge nicht zu Biliverdin, sondern zu unbekannten Metaboliten umgewandelt.
2. Auf Grund der fehlenden Biliverdinreduktase wird Häm nur zu Biliverdin oxidiert und dann entweder ausgeschieden, oder weiter in unbekannte Abbauprodukte um-

gewandelt.

3. Bilirubin wird vor Ausscheidung durch eine sogenannte Bilirubinoxidase weiter abgebaut.

Zusammenfassend können folgende Verteilungs- und Abbauvorgänge des Hämoglobins als gesichert angenommen werden:

1. Das tetramere Hämoglobinmolekül dissoziiert in zwei symmetrische Dimere und verläßt rasch den Intravasalraum ($T/2 = 120$ Minuten).
2. Dimere Hämoglobinmoleküle werden im Plasma und in der Lymphe an Hämproteine gebunden und in Leber und Knochenmark abgebaut.
3. Ist die Bindungskapazität der Hämproteine im Plasma ausgeschöpft, so werden 50% des freien Hämoglobins glomerulär filtriert.
4. Renal filtriertes Hämoglobin wird von den Zellen des proximalen Konvoluts absorbiert und abgebaut.
5. Überschreitet die Konzentration des filtrierten Hämoglobins die Aufnahmekapazität der Tubuluszellen, so wird Hämoglobin im Urin ausgeschieden.
6. Die verbleibenden 50% des freien Hämoglobins werden wie der Häm-Proteinkomplex durch ein in den Einzelheiten noch nicht bekanntes Enzymsystem in den Hepatozyten katabolisiert.

Durch den raschen Abstrom der Hämoglobinmoleküle aus dem intravasalen Raum erhöht sich der interstitielle onkotische Druck, was zu einem interstitiellen Ödem führen könnte. Insbesondere ein Lungenödem würde bei Patienten im Schock die notwendige Sauerstoffversorgung der Gewebe weiter gefährden.

Es sollte daher mit unserem präklinischen Versuchsmo-
dell geprüft werden, ob sich nach Hämoglobininfusion
in Kombination mit Kristalloidlösungen bei den Versuchs-
tieren ein Lungenödem entwickelt.

Um entscheiden zu können, ob die Hämoglobinlösungen
trotz ihrer kurzen Verweildauer im Plasma als initialer
Blutersatz sinnvoll Verwendung finden könnten, wurde im
gleichen Modell weiterhin die Auswirkung einer massiven
SFH-Infusion auf die Makro- und Mikrozirkulation und
deren Beitrag an der Sauerstoffgesamtversorgung unter-
sucht.

Darüber hinaus sollten mögliche histologische Veränderun-
gen infolge toxischer Nebenwirkungen der Hämoglobinlösun-
gen auf die Organe Niere, Leber, Herz und Lunge durch
lichtmikroskopische Untersuchungen der Gewebe erfaßt wer-
den.

8. Auswirkung von Hämoglobinlösungen auf Lungenfunktion und Lungenkreislauf

Flüssigkeitsverschiebungen im Gewebe sind abhängig von den hydrostatischen und kolloidosmotischen Drucken in den Kapillaren und im Interstitium. Unter Normalbedingungen stehen die Drucke - Starlingsche Kräfte genannt - im Gleichgewicht (121).

FISHMAN (42) wies elektronenmikroskopisch nach, daß Hämoglobinmoleküle aus den Lungenkapillaren diffundieren. Diese kolloidalen Moleküle begünstigen eine Erhöhung des onkotischen Drucks im Interstitium und dadurch den Einstrom von Wasser.

Der kolloidosmotische Druck des Plasmas wurde in unseren Versuchen durch Infusion von 111,9 ml/kg KG bzw. 116,5 ml/kg KG Ringers-Laktat-Lösung innerhalb von drei Stunden von 24 bzw. 25,6 cmH₂O auf 16,03 bzw. 17,3 cmH₂O gesenkt.

Pathogenetisch führt eine Verschiebung größerer Mengen Wasser in das Interstitium der Lunge zu einem Auseinanderdrängen der kollagenen Fasern (42,47,76). Weitgehend frei läßt das sich entwickelnde Ödem die nur 800 Å weite Diffusionszone über der Kapillarkonvexität (76). Das Exsudat sammelt sich vor allem in den breiten zell- und fibrillenhaltigen perikapillären Bezirken (50,76). Daher dominiert funktionell nicht das Diffusionshinderung, sondern der Alveolenkollaps bei erhaltener Durchblutung. Dies führt zu einem vermehrten Rechts-Links-Shunt mit arterieller Hypoxämie (50,63,76,125,122).

Ein interstitielles Lungenödem wirkt sich aber nicht nur auf die Blutgase, sondern auch auf die Hämodynamik des Pulmonalkreislaufs aus. Durch den Einstrom von Flüssigkeit erhöht sich der hydrostatische Druck im Interstitium und parallel dazu der Widerstand in den kleinen Lungengefäßen, was zu einer Erhöhung des Pulmonalarteriendruckes führt (122). Außerdem bewirkt die Hypoxie im Lungenkreislauf eine Vasokonstriktion der Lungenarteriolen, der Pulmonalgefäßwiderstand steigt an und verstärkt den Anstieg des Pulmonalarteriendruckes weiter (122).

Eine länger bestehende Hypoxämie führt zu einer zellulären Hypoxie, die der Körper nicht oder nur ungenügend schnell kompensieren kann. Die Folge ist eine metabolische Azidose.

Die von uns gemessenen Drucke in der Pulmonalarterie und den Lungenkapillaren, der Pulmonalarterienwiderstand, der Sauerstoffpartialdruck, $p\text{CO}_2$ und pH im venösen Blut sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Der Anstieg des Mitteldrucks in der Arteria pulmonalis, des mittleren Lungenkapillarverschlußdrucks und des rechten Vorhofdrucks während der ersten Minuten nach Reanimation ist Folge einer kurzen Rechtsherzüberlastung, da die Hämoglobininlösung nach dem Blutentzug rasch infundiert werden mußte, um die hypotone Zeitspanne möglichst kurz zu halten. Der signifikante Abfall des Pulmonalarteriendruckes in der Gruppe B nach 60 Minuten ist als Zeichen der durch den schnellen Abstrom der Hämoglobininlösung bedingten Hypovolämie zu werten. Im weiteren Ver-

suchsablauf bleiben die Werte des PAP, des PCWP und des pulmonalen Strömungswiderstandes nahezu unverändert. Auch die Sauerstoffpartialdrucke des arteriellen Blutes bleiben im Normbereich und lassen keine Hypoxämie erkennen.

Das Säure-Basen-Gleichgewicht in der Gruppe A zeigt während des Versuchsablaufs ebenfalls keine wesentlichen Änderungen. In der Gruppe B entwickelt sich während der Austauschphase eine metabolische Azidose (hidden acidosis). Dies wird deutlich nach Wiederherstellung der Mikrozyrkulation; die H^+ -Ionen und die CO_2 -Moleküle werden "ausgewaschen" ("washout"-Phänomen) (86), was zu einem pH-Abfall und einer Erhöhung des CO_2 -Druckes im venösen Blut führt. Nach 60 Minuten sind pH und pCO_2 wieder im Bereich der Kontrollwerte.

Somit gibt es auf Grund unserer Messungen trotz Hämoglobininfusion und Infusion von 114 ml/kg KG Ringers-Laktat-Lösung kein Zeichen dafür, daß sich während unserer Versuche ein klinisch relevantes interstitielles Lungenödem entwickelt hätte.

Tabelle 7

Änderungen des mittleren Druckes in der Art. pulmonalis (PAP) und in den Lungenkapillaren (PCWP), des pulmonalen Strömungswiderstandes (PVR), des Sauerstoffpartialdruckes im art. Blut, des $p\text{CO}_2$ und des pH vor und 10, 60, 120, 240 Minuten nach Blutaustausch

	Kontrolle	1	10	60	120	240
PAP (mm Hg)	Gruppe A 14,9 $\pm$ 1,1	18,6 $\pm$ 1,3	15,5 $\pm$ 1,2	12,8 $\pm$ 1	13,6 $\pm$ 1,6	15,7 $\pm$ 1,4
	Gruppe B 14,9 $\pm$ 1,0	23,2 $\pm$ 1,4	19,1 $\pm$ 1	13,8 $\pm$ 0,7	14,8 $\pm$ 1,3	17,0 $\pm$ 2,2
PCWP (mm Hg)	Gruppe A 5,2 $\pm$ 0,7	11,3 $\pm$ 2,2	7,8 $\pm$ 0,9	5,8 $\pm$ 0,8	7,1 $\pm$ 2,5	7,2 $\pm$ 2,4
	Gruppe B 6,2 $\pm$ 1,0	13,9 $\pm$ 1,3	10,3 $\pm$ 1,1	6,1 $\pm$ 0,8	6,3 $\pm$ 1,7	6,1 $\pm$ 1,1
PVR (PRU)	Gruppe A 0,047 $\pm$ 0,01	0,038 $\pm$ 0,003	0,043 $\pm$ 0,01	0,041 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,004	0,032 $\pm$ 0,005
	Gruppe B 0,056 $\pm$ 0,006	0,034 $\pm$ 0,01	0,035 $\pm$ 0,003	0,037 $\pm$ 0,004	0,041 $\pm$ 0,007	0,052 $\pm$ 0,013
$p\text{O}_2$ art.	Gruppe A 118,5 $\pm$ 6		121 $\pm$ 8,1	123 $\pm$ 6,4	134,5 $\pm$ 1	114 $\pm$ 1
(mm Hg)	Gruppe B 112,9 $\pm$ 5		124,5 $\pm$ 4	120 $\pm$ 4,3	128,8 $\pm$ 5	119 $\pm$ 9
$p\text{CO}_2$ ven.	Gruppe A 44,6 $\pm$ 2		46,7 $\pm$ 3	46,6 $\pm$ 3	45,2 $\pm$ 1,6	41,8 $\pm$ 2
(mm Hg)	Gruppe B 44,2 $\pm$ 1,1		54,2 $\pm$ 3,1	48,1 $\pm$ 1,3	47,9 $\pm$ 2,5	46,7 $\pm$ 2
pH	Gruppe A 7,344 $\pm$ 0,014		7,33 $\pm$ 0,02	7,356 $\pm$ 0,06	7,358 $\pm$ 0,02	7,383 $\pm$ 0,01
	Gruppe B 7,343 $\pm$ 0,02		7,26 $\pm$ 0,02	7,34 $\pm$ 0,02	7,343 $\pm$ 0,015	7,37 $\pm$ 0,011

9. Hämodynamische Änderungen nach SFH-Infusion

Jeder massive Blutverlust führt zu einer Störung der Mikrozirkulation. Diese ist erstens gekennzeichnet durch eine Einstrombehinderung in das Kapillarnetz der Gewebe infolge Abnahme des strömungswirksamen Druckgradienten und einer starken Vasokonstriktion der präkapillaren Gefäßabschnitte (142, 143).

Zweitens können sich die Erythrozyten auf Grund der verlangsamten Strömungsgeschwindigkeit und eventuell toxinbedingter Verminderung ihrer Flexibilität nicht ausreichend verformen, sodaß der Durchstrom durch die Kapillaren gestört ist (30).

Drittens kommt es durch das veränderte rheologische Verhalten des Blutes (Aggregation, Bildung von sogenannten Rouleaux und durch Stase bedingter steiler Anstieg der Viskosität des Blutes in den postkapillären Venolen) zur Behinderung des Ausstroms (30,75,134,158). In der terminalen Strombahn führt dies zur Dissoziation der Durchströmung, d.h., es finden sich Bezirke mit extremer Strömungsverlangsamung und Stase neben Bezirken mit rascher Plasmaströmung. Die Gewebe werden daher inhomogen durchblutet und ungenügend mit Sauerstoff versorgt. Die Folge sind Hypoxie oder Anoxie und vermehrter Anfall von Abbauprodukten aus dem anaeroben Zellstoffwechsel, die auf Grund der reduzierten Austauschfläche nicht mehr abtransportiert werden können.

Eine effektive Volumentherapie kann daher nicht allein im Volumenersatz bestehen, sondern muß auch die Mikrozirkulation und die Sauerstoffversorgung der Gewebe verbessern. Dieses Ziel kann nur durch die Verminderung der hohen Blutviskosität in den postkapillären Venolen erreicht werden (82).

Kolloidale Lösungen, wie zum Beispiel Dextran 60, bewirken einen überproportionalen Abfall der Blutviskosität durch Senkung des Hämatokrit (82). Normovolämische Hämodilution mit Dextran 60 führt in vivo infolge der Senkung der Blutviskosität und Steigerung des venösen Rückstroms zu einem sofortigen Anstieg des Schlagvolumens des Herzens. Bei gleichbleibender Herzfrequenz ist dadurch das Herminutenvolumen gesteigert, und gleichzeitig wird die kapilläre Durchflußrate verbessert (82). Durch limitierte normovolämische Hämodilution (Hämatokrit 20%) wird trotz des reduzierten Sauerstoffgehalts im Vollblut die Perfusion und die Sauerstoffversorgung der Gewebe durch die Erhöhung des Herzzeitvolumens um etwa 70% voll kompensiert (83,84,85,87).

Stromafreie Hämoglobinlösung senkt auf Grund ihrer niedrigen Eigenviskosität (1,05 cP bei 37°C) die Viskosität von Vollblut und Plasma (31,51,145). Isovolämischer Blutersatz mit stromafreier Hämoglobinlösung führt jedoch zu keiner längerfristigen Erhöhung des Herzzeitvolumens, wie man es bei einem vergleichbaren Grad der Hämodilution mit anderen kolloidalen Lösungen, wie zum Beispiel Dextran 60, erwarten würde (51).

Auch bei den eigenen Versuchen liegt in der Gruppe A das Herzminutenvolumen nach Volumenersatz durch SFH infolge einer relativen Bradykardie und des nur wenig erhöhten Schlagvolumens (siehe Tabelle 8) trotz Abfall des Hämatokrits auf $13,0 \pm 1,3\%$ unter den Kontrollwerten. Durch die Erhöhung des Schlagvolumens steigt dagegen in Gruppe B das Herzzeitvolumen in der ersten Minute bei gleicher Frequenz wie in A auf 126% des Kontrollwertes an.

Nach 10 Minuten ist es jedoch wieder auf die Höhe der Ausgangswerte abgesunken. Die Ursachen für dieses gegensätzliche Verhalten der Herzminutenvolumina beider Versuchsgruppen sind bei vergleichbarem Grad der Dilution nicht in den rheologischen Unterschieden der zwei Lösungen zu suchen, zumal sich der periphere Widerstand in Gruppe B nur unwesentlich änderte. Wahrscheinlich hatte die relativ längere Asystoliezeit der Hunde in der Gruppe B von $39,2 \pm 14,7$ Sekunden gegenüber $9,2 \pm 3,7$ Sekunden in der Gruppe A zu einer kurzfristigen Linksherzüberlastung geführt, die durch die deutliche Erhöhung der Drucke in der Arteria pulmonalis und in den Lungenkapillaren gekennzeichnet ist; Wiederherstellung der Blutzirkulation bei erhöhtem Füllungsdruck im linken Ventrikel führt zu einem Anstieg des Auswurfvolumens.

Während nach Hämodilution mit Dextran 60 die Herzfrequenz geringfügig ansteigt (82,87,120), fällt sie bei Hämodilution mit Hämoglobininlösung während und nach dem Blutaustausch ab. Bei unseren Versuchsgruppen liegt sie nach 10 Minuten mit 125 Schlägen pro Minute 25% unter der Kontrolle. Sie bleibt in Gruppe B 4 Stunden lang unter den Ausgangswerten, während sie in Gruppe A nach 120 Minuten wieder Kontrollniveau erreicht.

Diese Abnahme der Herzfrequenz ist von verschiedenen Autoren in unterschiedlichen Versuchsmodellen beobachtet worden. KAPLAN und MURTHY ersetzten entzogenes Blut bis zu einem Hämatokrit von 3% isovolämisch mit Hämoglobininlösung und stellten eine kontinuierliche Abnahme der Herzfrequenz fest (67). UNSELD beobachtete nach Infusion von 500 ml Hämoglobininlösung bei Miniaturschweinen ebenfalls eine Bradykardie (156).

Tabelle 8

Veränderungen des Herzminutenvolumen (HZV), Schlagvolumen und der Herzfrequenz (HF) vor, sowie 1, 10, 60, 120 und 240 Minuten nach Infusion von SPH

	Kontrolle	1	10	60	120	240
HZV (ml/kg KG)						
Gruppe A	202,9 $\pm$ 23,2	185,0 $\pm$ 16,8	180,8 $\pm$ 15,2	203,1 $\pm$ 32,3	216,0 $\pm$ 31,1	209,0 $\pm$ 37,7
Gruppe B	210,2 $\pm$ 17,3	263,4 $\pm$ 26	258,3 $\pm$ 28,5	209,5 $\pm$ 13,1	248,1 $\pm$ 45,6	239,0 $\pm$ 38,9
Schlagvolumen						
Gruppe A	1,25 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,2	1,43 $\pm$ 0,23	1,36 $\pm$ 0,3	1,38 $\pm$ 0,2	1,37 $\pm$ 0,2
Gruppe B	1,15 $\pm$ 0,15	2,43 $\pm$ 0,4	2,12 $\pm$ 0,3	1,44 $\pm$ 0,4	1,77 $\pm$ 0,35	1,68 $\pm$ 0,3
HF (min ⁻¹)						
Gruppe A	161,7 $\pm$ 8,8	102,8 $\pm$ 7,0	105,3 $\pm$ 6,7	149,8 $\pm$ 8,9	157,3 $\pm$ 7,7	149,3 $\pm$ 10,1
Gruppe B	167,7 $\pm$ 3,4	108,5 $\pm$ 9,9	103 $\pm$ 10,2	144,8 $\pm$ 10,5	140 $\pm$ 11,5	139,8 $\pm$ 11,1

Die relative Bradykardie nach Anwendung von SFH scheint eine spezifische Nebenwirkung der Lösung zu sein. Allerdings kann das Fehlen des Herzzeitvolumenanstiegs nur teilweise durch diese Bradykardie erklärt werden, denn es beruht gleichzeitig auf dem schnellen Abstrom des Hämoglobins aus dem Plasma. Die Tiere werden rasch hypovolämisch, was einen Anstieg des Herzzeitvolumens verhindert. Als Zeichen dieser sich schnell entwickelnden Hypovolämie sinkt der zentrale Venendruck von 3,75 mmHg bzw. 4,5 mmHg innerhalb der ersten Stunde auf 2,7 mmHg bzw. 3,25 mmHg ab. Ebenso verhalten sich nach 60 Minuten der PAP und der PCWP in beiden Gruppen.

SUNDER-PLASSMANN et al. erreichten bei Blutaustausch bis zum Hkt von 10% nur dann einen Anstieg des Herzzeitvolumens um 80% über den Ausgangswert, wenn sie Blut im Verhältnis 1:2 durch SFH ersetzten. Trotzdem war diese Steigerung nur kurzfristig. Schon nach 60 Minuten war das Herzzeitvolumen unter den Kontrollwert abgesunken. (145).

Um dieser sich rasch entwickelnden Hypovolämie zu begegnen, infundierten wir eine Stunde nach Austausch Ringers-Laktat-Lösung. Innerhalb von einer Stunde mußte in Gruppe A das 2,3fache, in Gruppe B das 2,7fache des anfänglich entzogenen Blutvolumens durch Ringers-Laktat-Lösung ersetzt werden, um den RAP auf der Höhe der Werte vor dem Austausch zu halten. Die Herzminutenvolumina beider Gruppen stiegen jedoch trotz Dilution mit Ringers-Laktat-Lösung nur unwesentlich an, die Schlagvolumina blieben im Bereich der Kontrollwerte.

Die Notwendigkeit derart hoher Volumina von Ringers-Laktat-Lösung steht in Einklang mit den Beobachtungen anderer Autoren (13,54,92,124,148), die etwa das dreibis fünffache des entzogenen Blutvolumens an Ringers-Laktat-Lösung infundieren mußten, um normovolämische Verhältnisse wiederherzustellen und zu erhalten.

GUMP et al. (54) konnten, nachdem sie Hunde mit Ringers-Laktat-Lösung bis zu einem Hämatokrit von 23% durch hypervolämischen Austausch im Verhältnis 3:1 diluiert hatten, einen geringen Anstieg des Herzzeitvolumens um 35% nachweisen. TAKAORI und SAFAR (148) dagegen stellten bei einem Hämatokrit von 10% einen Abfall des Herzzeitvolumens nach Dilution mit Ringers-Laktat im Verhältnis von 3:1 fest.

10. Sauerstoffversorgung der Gewebe durch SFH

10.1. Sauerstoffaffinität von SFH in vitro

Der Einsatz von SFH als zumindest kurzfristiger Blutersatz ist nur dann sinnvoll, wenn neben dem restlichen intraerythrozytären Hämoglobin auch die Hämoglobinemoleküle der Lösung zur Sauerstoffversorgung der Gewebe beitragen. Dazu muß das freie Hämoglobin fähig sein, Sauerstoff in der Lunge aufzunehmen und ihn an das Gewebe abzugeben.

Das Ausmaß der Sauerstoffaufnahme und -abgabe ist von dem Sauerstoffpartialdruck in den Alveolen bzw. den Geweben sowie von der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins abhängig. Die in vitro gemessenen Sauerstoffbindungskurven der beiden Lösungen sind deutlich nach links verschoben. Die P_{50} -Werte betragen für die Lösungen 16,4 mmHg bzw. 15,9 mmHg und liegen weit unter dem normalen Wert für Vollblut ($P_{50} = 27$ mmHg). Das bedeutet: die von uns verwendeten Lösungen haben eine hohe Sauerstoffaffinität.

Die Ursachen dafür sind

1. die niedrige Konzentration von 2,3 DPG in den SFH-Lösungen (8,9,28).
2. der vergleichsweise hohe pH-Wert (7,6 bzw. 7,55) im Gegensatz zu den Ionenverhältnissen in den Erythrozyten (pH 7,1 - 7,2) (7,14) und
3. der niedrigere Hämoglobingehalt der Lösungen (44)

10.2. Auswirkung des pH auf die Sauerstoffaffinität

H^+ -Ionen stärken im molekularen Bereich die Wasserstoffbrückenbindung zwischen den α - und β -Ketten des Hämoglobinemoleküls und stabilisieren die Desoxystruktur (7). Ein Anstieg von H^+ -Ionen-gleichbedeutend mit niedrigem pH - fördert die Sauerstoffabgabe und verschiebt damit die Sauerstoffbindungskurve nach rechts (Bohreffekt) (14). Ein Abfall der H^+ -Konzentration verlagert die Sauerstoffbindungskurve nach links, was gleichbedeutend mit einem Anstieg der Affinität für Sauerstoff ist.

10.3. Einfluß von 2,3 DPG auf die Sauerstoff-Aufnahme und -Abgabe

2,3 DPG beeinflusst die Sauerstoffaffinität in zweifacher Hinsicht. Erstens verbindet 2,3 DPG die zwei β -Ketten des Hämoglobinemoleküls und stabilisiert somit die quartäre Desoxystruktur. Zweitens bewirkt die Eigenaktivität von 2,3 DPG eine Reduktion des intraerythrozytären pH (7), was dem oben beschriebenen Bohreffekt entspricht. Niedriger 2,3 DPG-Gehalt bedeutet daher eine hohe Sauerstoffaffinität des Hämoglobins.

Die von uns untersuchten Lösungen weisen mit 1,93 bzw. 2,82 Mol/g Hb eine geringe DPG-Konzentration auf. Aber selbst dieses extraerythrozytäre 2,3 DPG wird in vivo innerhalb von 15 Minuten durch die Niere ausgeschieden oder diffundiert in den interstitiellen Raum, so daß seine Wirkung auf die Sauerstoffaffinität allenfalls kurzfristig sein könnte (145).

Die hohe Sauerstoffaffinität der Lösung verändert die Sauerstoffaufnahme in der Lunge nur unwesentlich (35, 103). Die Bindungszahl des freien Hämoglobins im Plasma beträgt 60 Minuten nach dem Blut-austausch in der Gruppe A 1,26 ml O_2 /g Hb und in der Gruppe B 1,28 ml O_2 /g Hb und liegt damit in dem von SUNDER-PLASSMANN et al. angegebenen Bereich (145). Im Vergleich dazu bindet intraerythrozytäres Hämoglobin mit 1,34 ml O_2 /g Hb - 1,39 ml O_2 /g Hb nur wenig mehr Sauerstoff an sich (131).

Die Sauerstoffabgabe aus dem Plasmahämoglobin ans Gewebe ist im Vergleich zu intraerythrozytärem Hämoglobin jedoch erheblich erschwert, wie ELIA et al. (37) und SUNDER-PLASSMANN et al. zeigen konnten (141,144).

In vivo verlagert sich nach Infusion von SFH die Sauerstoffbindungskurve für das Vollblut-Hämoglobin Gemisch deutlich nach links, der P_{50} -Wert ist mit 22,9 bzw. 25,7 mmHg erniedrigt.

Dieser Anstieg der Sauerstoffaffinität 60 Minuten nach Austausch muß mit einem Summeneffekt erklärt werden, da wie SUNDER-PLASSMANN et al. beobachteten, das Ausmaß der Linksverschiebung von der Menge der infundierten Hämoglobininlösung abhängt (144).

Ein isovolämischer Austausch von nur 20 ml/kg KG Blut gegen SFH führt nur zu einer geringen Linksverlagerung der Bindungskurve des "Gesamtblutes" und damit Steigerung der Sauerstoffaffinität. Erst wenn etwa 50% der Gesamthämoglobinkonzentration von Plasmahämoglobin gestellt werden - bei unseren eigenen Versuchen liegt

der Anteil des Plasmahämoglobins bei etwa 45% bzw. 48% - wird die Sauerstoff-Dissoziationskurve des "Vollbluts" deutlich nach links verschoben. Innerhalb von 4 Stunden steigen die P_{50} -Werte langsam an, erreichen jedoch nicht die Höhe der Ausgangswerte.

Mit dem Abfall der P_{50} -Werte im Blutgemisch fällt nach Infusion der DPG-armen Hämoglobinlösung auch die 2,3 DPG-Konzentration im Blut der Tiere deutlich ab. Wie SUNDER-PLASSMANN et al. feststellten, ist die Sauerstoffaffinität - ausgedrückt im P_{50} -Wert des Blutgemisches - direkt mit der Konzentration von 2,3 DPG korreliert (145).

In beiden Versuchsgruppen bleibt die DPG-Konzentration 240 Minuten lang signifikant unter den Ausgangswerten, steigt aber im Vergleich zum 10 Minuten-Wert zumindest in der Gruppe B deutlich an.

Diese Zunahme an 2,3 DPG steht in Einklang mit den Untersuchungen von DUHM und GERLACH. DUHM und GERLACH (35) entzogen Ratten innerhalb von 8 Stunden 8-12 ml Blut und bestimmten chromatographisch die 2,3 DPG-Konzentration; sie stellten fest, daß schon nach 5 Stunden der 2,3 DPG-Spiegel der anämischen Ratten signifikant anstieg. Dieser Anstieg des 2,3 DPG in den Erythrozyten ist durch den Sauerstoffmangel des Organismus bedingt.

Die Bildung größerer Mengen von Methämoglobin während der Herstellung und Lagerung der Lösung oder nach Infusion in vivo kann mit großer Sicherheit ausgeschlossen werden. Der Methämoglobinanteil am Gesamthämoglobin

in SFH-Lösung die bei 4°C gelagert wurde, lag zwischen 33-43 % (115,93,94). Selbst nach langer Lagerung (8 Monate) bei +5°C konnte kein Methämoglobin in den Hämoglobininlösungen festgestellt werden (115), da die Oxidationsrate von freiem Hämoglobin zu Methämoglobin bei niedrigen Temperaturen und hohem pO_2 deutlich reduziert ist.

AMBERSON et al. (2) ersetzten bei Katzen und Hunden das Blut in unterschiedlicher Dosierung durch Rinderhämoglobininlösung und maßen die Hämoglobin- und Methämoglobinkonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit. Sie stellten fest, daß 36 Stunden nach Hb-Infusion 50% des Gesamthämoglobins im intravasalen Raum in Form von Methämoglobin vorlag. Als sie aber 1949 zwei Patienten Humanhämoglobininlösung infundierten, konnten sie keinen Anstieg des Methämoglobinanteils im Blut dieser Versuchspersonen nachweisen (3).

FURLAN und BACHOFEN (46) überprüften in vitro die Oxidationsrate bei verschiedenen Sauerstoffdrucken und konnten zeigen, daß bei einem pO_2 von 60 mmHg und 37°C erst nach 12 Stunden 50% des freien Hämoglobins zu Methämoglobin oxidiert wurde, zu einem Zeitpunkt also, zu dem bei Infusion die Hämoglobininlösung den intravasalen Raum zum überwiegenden Teil verlassen hat. Darüber hinaus stellten MANSOURI und WINTERHALTER (78) fest, daß im Vergleich zu Hämoglobin in Plasma, Hämoglobin in Lösung wesentlich langsamer in Methämoglobin umgewandelt wird.

Diese Befunde konnten durch RELIHAN und LITWIN (119) in vivo bestätigt werden. Durch Gabe von Ammoniumchlorid wurde bei Hunden eine chronische metabolische

Azidose erzeugt und anschließend 250ml Hämoglobinlösung infundiert. Obwohl niedrige pH-Werte die Autooxidationsrate des freien Hämoglobins erhöhen, konnten die Autoren nur 20-30% Methämoglobin im gesamten ausgeschiedenen Hämoglobin nachweisen. Aber selbst Methämoglobinkonzentrationen in dieser Größenordnung werden vom Organismus gesunder Menschen trotz der behinderten Sauerstoffabgabe toleriert (119).

In einem Versuch, der den vorliegenden Versuchen entsprach, konnte JESCH zeigen, daß unmittelbar nach SFH-Infusion 4% des Gesamt-Plasmahämoglobins als Methämoglobin vorlag. Dieser Anteil erhöhte sich in den folgenden 4 Stunden auf 6% (66).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich nach SFH-Infusion auf Grund der hohen Sauerstoffaffinität der Lösung die Sauerstoffdissoziationskurve des Blut-Hb-Gemisches deutlich nach links verschiebt und damit die Sauerstoffabgabe an das Gewebe behindert.

10.4 Anteil des extraerythrozytären Hämoglobins an der Sauerstoffversorgung der Tiere

Das Sauerstoffangebot fiel nach Austausch in der Gruppe A um 50%, in der Gruppe B um 35% ab, da beide Lösungen auf Grund ihres niedrigen Hämoglobingehaltes (6%) die Gesamthämoglobinkonzentration um 40-50% verminderten, und das Herzminutenvolumen nicht angestiegen war.

Bedingt durch die kurze intravasale Verweildauer des Plasmahämoglobins sank der Anteil des extraerythrozytären Hämoglobins am Gesamtsauerstoffangebot von 46% bzw. 48% in der Gruppe B nach 10 Minuten innerhalb von 4 Stunden auf 27% ab.

Der Gesamtsauerstoffverbrauch blieb während des Beobachtungszeitraums konstant. Der Anteil des Plasmahämoglobins am Gesamtsauerstoffverbrauch jedoch sank analog zu den Werten des Sauerstoffangebots ab und betrug nach 4 Stunden 7% bzw. 10% . Das bedeutet, daß der Anteil des extraerythrozytären Hämoglobins an der Versorgung der Gewebe mit Sauerstoff schon nach 10 Minuten nach Entbluten und Reinfusion sehr gering ist und auf Grund des raschen Abstroms der Hämoglobinkomplexe ins Interstitium rapide abnimmt. Kompensatorisch steigt die Sauerstoffextraktion aus dem intraerythrozytären Hämoglobin an, was zu einem Anstieg der $AVDO_2$ (Sättigungs%) und einem Abfall des venösen pO_2 im Vollblut führt. Festzustellen ist, daß das freie Hämoglobin nur wenig zur Sauerstoffversorgung der Gewebe beiträgt, obwohl anfänglich etwa die Hälfte des Sauerstoffangebots von ihm getragen wird.

Korreliert man die getrennt bestimmten Sauerstoffextraktionsraten aus freiem Hämoglobin und intraerythrozytärem Hämoglobin, so zeigt sich, daß erst wenn das Erythrozytenhämoglobin zu 40% entsättigt ist, eine geringe Sauerstoffabgabe aus dem Plasmahämoglobin stattfindet. Mit ansteigenden Sauerstoffextraktionsraten bis zu 80% aus dem Erythrozytenhämoglobin erhöht sich auch die Beteiligung des extraerythrozytären Hämoglobins an der Sauer-

stoffversorgung. Das bedeutet, daß selbst nach extremem Blutverlust und isovolämischem Ersatz mit SFH zunächst das noch verbleibende intraerythrozytäre Hämoglobin die Sauerstoffversorgung der Gewebe aufrechterhält.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit denen von KAPLAN und MURTHY (67) . Nach fünfmaligem isovolämischem Blut-austausch von jeweils 10 ml/kg KG gegen stromafreie Hämoglobinlösung senkten KAPLAN und MURTHY den Hämatokrit auf 17% und konnten zeigen, daß erst, wenn 50% des Erythrozyten-Hämoglobins von Sauerstoff entsättigt war, aus extraerythrozytärem Hämoglobin Sauerstoff abgegeben wurde.

Eine höhere Sauerstoffausschöpfung aus dem Plasmahämoglobin erreichten KOLESNIKOW et al.. Sie infundierten thoraxoperierten Patienten 700-1100 ml Hämoglobinlösung und berichteten, daß 50% des freien Hämoglobins desoxygeniert waren(68). Nicht ersichtlich ist jedoch die Bestimmungsmethode; außerdem wird nicht mitgeteilt, ob der im Plasma physikalisch gelöste Sauerstoff bei der Angabe der Entsättigungsrate des Hämoglobins in Betracht gezogen wurde.

Ursache für den geringen Beitrag des freien Hämoglobins an der Sauerstoffversorgung ist die oben beschriebene hohe Sauerstoffaffinität. Trotz hoher Affinität könnte die Hämoglobinlösung jedoch Sauerstoff an das Gewebe der Organe abgeben, die unter normalen Bedingungen eine extrem hohe Sauerstoffausschöpfung besitzen, wie z.B. das Myokard. Darüber hinaus bestünde dennoch eine Indikation für Hb-Lösungen beim Schock. Bei allen Formen des Schocks kommt es nämlich zu der "schockspezifischen Störung der Mikrozirkulation" , wobei in den terminalen Strombahnen Areale extremer Strömungsverlangsamung sowie

Areale mit rascher, erythrozytenfreier Plasmaströmung auftreten (135). In Betiriken, die nur von Plasma durchströmt werden, oder aber in den Randzonen von Gewebe, welches auf Grund von Thrombose oder Gefäßverengung kaum durchströmt wird, könnte SFH als Sauerstoffdonator agieren sein (81).

Hierfür spricht, daß bei Versuchen mit Blutaustausch gegen hochaffines SFH bis zu einem Hämatokrit $< 1\%$ und bei isolierten Organperfusionen mit SFH-Lösung gezeigt werden konnte, daß SFH trotz hoher Sauerstoffaffinität eine ausreichende Sauerstoffversorgung gewährleistet. MOSS et al. (94) und PALANI et al. (105, 106) stellten fest, daß Affen nach Infusion von SFH selbst bei einem Hämatokrit von 0% 3 Stunden überlebten, während die Reduktion des Hämatokrits unter 6% durch Dextran zum sofortigen Tod der Versuchstiere führte.

Ähnliche Versuche führte BRAASCH (17) durch. Er entzog Hunden schrittweise Blut bis ein Hämatokrit von 1% erreicht war, indem er das Blut mit 10% Hämoglobinlösung ersetzte. Die Hunde überlebten bei kontrollierter Nachinfusion mit SFH 24 Stunden, wobei der Laktatspiegel innerhalb dieses Zeitraums im Normbereich verblieb. BRAASCH schloß daraus, daß die Sauerstoffversorgung durch die Hämoglobinlösung während dieser Zeit ausreichend war. Ratten jedoch starben nach Blutaustausch mit der gleichen Hämoglobinlösung innerhalb von drei Stunden. BRAASCH nahm an, daß der rasche Tod der Versuchstiere nicht durch die mangelnde Sauerstoffversorgung durch SFH, sondern durch die überschießende osmotische Diurese bedingt war, die zu einem 10%igen Gewichtsverlust innerhalb von 2 Stunden führte. Durch Unterbindung der Ureteren konnte die Überlebenszeit verlängert werden.

FÖRSTER und HOOS (43) sowie HOLDEFER (62) perfundierten isolierte Lebern bzw. Herzen mit SFH und konnten keine Beeinträchtigung der Organfunktion oder histologisch nachweisbare Schädigungen feststellen.

Aus den angeführten Befunden kann geschlossen werden, daß SFH auf Grund seiner hohen Sauerstoffaffinität dann genügend Sauerstoff ans Gewebe transportiert, wenn es nicht mit intraerythrozytärem niedrigaffinem Hämoglobin konkurrieren muß.

Dies bedeutet, daß SFH als Perfusionslösung zur extrakorporalen Zirkulation bzw. Konservierung von Spenderorganen eingesetzt werden könnte, sofern in weiteren Versuchen eindeutig festgestellt wird, daß die hohe Konzentration an freiem Hämoglobin in den Lösungen nicht zu Organschäden führt. In der klinischen Situation des prolongierten Blutverlustes während Operation oder hämorrhagischen Schocks steht die Störung der Mikrozirkulation sowie die damit verbundene Minderversorgung der Gewebe mit Sauerstoff im Vordergrund.

Die kurze intravasale Verweildauer von SFH-Lösung jedoch führt zu keiner andauernden Verbesserung der Mikrozirkulation und das freie Hb in der SFH-Lösung hat auf Grund seiner hohen O_2 -Affinität nur geringfügigen Anteil an der O_2 -Versorgung der Gewebe. Somit stellt SFH - auch als kurzfristiger Blutersatz - keine Alternative zur Volumensubstitution mit homologem Vollblut oder kolloidalen Lösungen dar.

11. Pathologische Veränderungen nach SFH-Infusion

Aus den bisher besprochenen Befunden wurde ersichtlich, daß sich die geprüften SFH-Lösungen in ihrer Wirkung auf Hämodynamik und Sauerstoffabgabe sowie in ihrer intravasalen Verweildauer nicht voneinander unterscheiden. Trotzdem überlebten in der Gruppe A alle Hunde langfristig, während in der Gruppe B 5 von 6 Hunden vor dem 7. Tag starben.

Bei den 3 Tieren, die innerhalb des ersten Tages verstarben, fiel auf, daß die Zeit des Kreislaufstillstandes nach dem Entbluten und während der beginnenden Hämoglobininfusion im Durchschnitt etwa 50 Sekunden betrug. Die Asystoliedauer der Überlebenden beider Serien erstreckte sich nur über 15 Sekunden und war somit wesentlich kürzer. Obwohl diese deutlich verlängerte Asystoliedauer zu keinen irreversiblen Schäden führt, muß sie jedoch als Zeichen einer eingeschränkten Kompensationsfähigkeit des Herz-Kreislaufsystems angesehen werden. Der Grund für die mesenterialen Ödeme, die bei der Sektion der 3 Hunde gesehen wurden, sind die überdurchschnittlich hohen Mengen an Ringers-Laktat-Lösung, die im Verlauf von 3 Stunden infundiert wurden. Diese Beobachtung steht in Einklang mit Versuchen akuter Hämodilution durch Ringers-Laktat, die von TAKAORI und SAFAR (148) durchgeführt wurden. Nach Blutersatz durch das 2,5fache Volumen Ringers-Laktat-Lösung, fanden TAKAORI und SAFAR schwere Gewebsödeme, ohne daß sich jedoch ein Lungenödem entwickelt hatte.

12. Pathologisch-histologische Veränderungen nach SFH-Infusion

Nachdem RABINER et al. 1967 die Herstellung von Hämoglobinlösung beschrieben hatten die völlig frei von Bestandteilen der Erythrozytenmembran war, konnten zahlreiche andere Arbeitsgruppen bei unterschiedlichen Versuchsmodellen zeigen, daß diese Lösungen nicht zu Nierenschädigungen führen (113).

Im Gegensatz dazu fanden jedoch BURCK et al. nach Infusion von 1,8g Hb/kg KG SFH bei Kaninchen am dritten Versuchstag typische Zeichen des akuten Nierenversagens als Folge renaler Minderdurchblutung. Histologisch fanden sich Chromoproteidzylinder in Rinde, Außenzone und Papille, hypoxische Vakuolen in allen Abschnitten der Niere sowie Tubulusnekrosen, die manchmal bis zur totalen Nierenrindennekrose reichten. (26)

Bei der histologischen Begutachtung der eigenen Präparate fanden sich in der Gruppe A keine, bei der Gruppe B bei 3 Hunden Veränderungen, wie sie für eine Mangelperfusion der Niere charakteristisch und ein Kennzeichen der Schockniere sind. Es fanden sich dilatierte Tubuluslumina und prolabierte Hauptstückepithelien in den Glomeruli. Ein weiteres Schockzeichen sind die vermehrt auftretenden Megakaryozyten in den Lungenkapillaren der Hunde. Diese Veränderung wird in der Humanpathologie als Megakaryozytenembolie bezeichnet und wird vor allem nach Tod durch septischen Schock, seltener beim hämorrhagischen Schock gefunden. Es muß jedoch festgestellt werden, daß Zeichen und Ausprägung der Minderdurchblutung in der Niere und die Megakaryozytenablagerung in der Lunge nicht mit der Überlebenszeit korrelierten.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen von SCHUBERT et al. (¹³⁷) zeigten, daß bei Wistarratten nach Injektion von stromafreier Hämoglobinlösung tubuläre apikale Vakuolen, die als Zeichen der Zellschädigung autologes Material enthalten, schon 2-4 Stunden nach Hämoglobingabe in den proximalen Tubuluszellen nachzuweisen sind. Besonders schwere Nierenschäden treten dann auf, wenn die Organe 30 Minuten nach Hämoglobininjektion, also im Stadium der starken Hämoglobinurie und während der aktivsten tubulären Hämoglobinaufnahme, von der Ischämie betroffen werden.

Bei 5 Hunden in der Gruppe A und bei 2 Hunden in der Gruppe B fanden sich feintropfige Verfettungen der azinozentralen Abschnitte der Leber, sowie feinhvakuolige Hepatozytenschwellung unterschiedlichen Ausmaßes. FÖRSTER und HOOS (43) konnten nach Perfusion eines isolierten Leberpräparates mit Hämoglobinlösung gleiche Veränderungen nicht feststellen.

SCHNEIDER et al. (136) infundierten 21 Wistarratten innerhalb von 3 Stunden 1000mg Hämoglobinlösung und untersuchten die Lebern der Tiere sowohl licht- als auch elektronenmikroskopisch. In den Leberzellen fanden sich innerhalb der ersten beiden Tage erhebliche Zellschädigungen. Die Hepatozyten waren glykogenfrei, das endoplasmatische Retikulum war aufgelöst und teilweise vakuolisiert. Ferner ließ sich eine Mitochondrienschwellung bis hin zur Cristolyse nachweisen.

In der Leber traten unmittelbar nach der Infusion große membranbegrenzte, elektronendichte Tropfen auf, die zum Teil Kerngröße erreichten.

Diese morphologischen Befunde bestätigen, daß freies Hämoglobin und seine Abbauprodukte nicht nur im RES der Leber, sondern auch in den Leberzellen selbst eingelagert und abgebaut werden. Die oben beschriebenen Veränderungen der Leber führte PIELSTICKER auf eine Minderperfusion der Leber zurück, die zu einer azinozentralen Leberzellnekrose führte. (108)

In diesem Zusammenhang finden sich bei diesen Hunden weitere Zeichen von Perfusionsstörungen in der Niere und multiple Megakaryozytenembolien in der Lunge. Es ist demnach unwahrscheinlich, daß die histologischen Veränderungen in der Leber auf Grund einer toxischen Wirkung von SFH-Infusion entstanden sind, vielmehr sind sie Ausdruck einer Mikrozirkulationsstörung in diesen Geweben.

Durch Eisenfärbung der histologischen Präparate wurden die Eisenpigmentablagerungen in den einzelnen Organen untersucht. Auf Grund der Stoffwechselvorgänge würde man sie im RES der Leber, in den Hepatozyten und in den Hauptstückepithelien der Niere erwarten. Dementsprechend zeigten auch 10 Tiere Hämosiderin in den Kupfferischen Sternzellen und 9 Hunde feinstäubige Eisenablagerungen im Bürstensaumbereich der Hauptstückepithelien.

Untersucht man die Pigmentablagerungen in den Organen der Hunde, die in den ersten 24 Stunden gestorben sind, so zeigt sich, daß bei 2 der 3 Tiere eine Sternzellsiderose nachweisbar ist, jedoch in keinem Fall konnten Eisenablagerungen in der Niere nachgewiesen werden. Wie oben

beschrieben zeigten die Nieren dieser Tiere Zeichen einer Minderdurchblutung. Da die Nephrosiderose durch eine energieverbrauchende Resorptionsleistung der Tubulusepithelien zustande kommt, wird sie durch eine Minderperfusion, die die glomeruläre Filtration sinken oder sistieren läßt und zu einem Energiemangel der Tubulusepithelien führt, verhindert. Bei Versuchstieren, die längere Zeit überlebten, wurde in jedem Fall eine Nephrosiderose festgestellt.

Da eine Sternzellsiderose in der Leber auch bei nicht oder anders behandelten Hunden häufig beobachtet wird, schloß PIELSTICKER (108), daß Eisenpigmentablagerungen in den Nierenepithelien eine direkte Folge der Hämoglobininfusion sind, während die Sternzellsiderose der Leber sich unabhängig davon entwickelt. In keinem Fall schrieb PIELSTICKER jedoch dieser Eisenpigmentablagerung eine toxische Wirkung zu.

Auf Grund dieser lichtmikroskopisch ermittelten Ergebnisse konnten keine irreversiblen Schädigungen der Organe als Folge der massiven SFH-Infusion bewiesen werden. An Hand von elektronenmikroskopischen Untersuchungen jedoch fanden SCHNEIDER und SCHUBERT (136,137) nach Infusion von SFH-Lösung deutliche Schäden in der Niere und Leber der Versuchstiere, somit in den Organen, in denen das freie Hb abgebaut wird.

Deshalb sollte SFH weiter und genauer auf seine Verträglichkeit und Auswirkungen geprüft werden, bevor man eine klinische Anwendung in Erwägung zieht.

E. AUSBLICK

Bei Versuchen, die intravasale Halbwertszeit zu verlängern, wurden Hämoglobinmoleküle mit Humanalbumin (145), Oxypolygelatine (145) und Dextran (149) verbunden oder zu Komplexen mit Molekulargewichten von 68000 bis 600000 polymerisiert. Diese verschiedenen Lösungen hatten eine deutlich längere intravasale Verweildauer. Andererseits war die Sauerstoffbindungskurve dieser Lösungen extrem nach links verschoben, was im Vergleich zu normalem Hämoglobin eine 2,5fach höhere Sauerstoffaffinität (90, 145) bedeutet.

Im Gegensatz dazu waren die Versuche, die Sauerstoffaffinität des extraerythrozytären Hämoglobins zu vermindern, erfolgversprechender.

BENESCH et al. (10) stellten fest, daß Pyridoxalphosphat, anstelle von 2,3 DPG an Hämoglobin gebunden, gleichartig wirkt, und somit in vitro die Sauerstoffaffinität deutlich vermindert wird.

Das Pyridoxalphosphat wird durch eine Reduktionsreaktion kovalent als Schiff'sche Base an das N-terminale Valin der Hämoglobin- β -Kette gebunden. Die Pyridoxilierung von Hämoglobin bewirkt im Vergleich zu konventionellem SFH in vitro eine deutliche Verschiebung der Bindungskurve nach rechts, der P_{50} -Wert liegt bei 24-34 mmHg. Solches pyridoxiliertes SFH, kurz SFH-PLP, wurde erstmals von BONHARD (16) in großen Mengen hergestellt, um in vivo Versuche durchzuführen, wobei allerdings der Reduktionsschritt nicht durchgeführt wurde.

Diese SFH-PLP (Fa. Biotest, Frankfurt a.M.) wurde erstmals in vivo im Institut für chirurgische Forschung, München, an Hunden nach der in der Methodik beschriebenen Versuchsanordnung getestet.

Während das Plasma-Hb in der konventionellen SFH-Lösung erst nach Entsättigung von 40% des Erythrozytenhämoglobins im geringen Maße Sauerstoff abgibt, versorgt pyridoxiliertes Hb schon nach Desoxygenierung von 20% des intraerythrozytären Hb das Gewebe mit Sauerstoff.

Das heißt, die durch die Pyridoxilierung von Hb verminderte Sauerstoffaffinität führte zu einer erhöhten Sauerstoffextraktion aus dem freien Hb.

Im Vergleich jedoch zum hohen P_{50} -Wert der SFH-PLP-Lösung müßte man eine höhere Sauerstoffausschöpfung erwarten. Weitere Versuche müssen zeigen, ob SFH-PLP in vivo eine höhere Sauerstoffaffinität als in vitro hat, oder ob Pyridoxal-phosphat in vivo vom Hämoglobinmolekül abgespalten wird und damit eine höhere Sauerstoffausschöpfung behindert (61, 65).

Aber selbst wenn die Pyridoxilierung von SFH in vivo zur Sauerstoffversorgung in einem ausreichenden Maße beiträgt, verlängert sie die intravasale Verweildauer der Lösung nicht.

Bevor jedoch Hämoglobinlösung sinnvoll als Blutersatzmittel klinisch Verwendung finden kann, müssen die Senkung der Sauerstoffaffinität, die Aufrechterhaltung des zirkulierenden Blutvolumens über mehrere Stunden und die Verträglichkeit der Lösung erreicht bzw. nachgewiesen werden.

F. ZUSAMMENFASSUNG

1. Fragestellung der hier beschriebenen Versuche war es, die Wirksamkeit und die Nebenwirkungen von SFH als Blutersatzmittel nach massivem Blutverlust zu prüfen. Dazu wurden 12 splenektomierte Bastardhunde bis zum Herzstillstand oder bis zu einem Verlust von $\frac{2}{3}$ des errechneten Blutvolumens arteriell entblutet. Das entzogene Blut wurde isovolämisch durch zwei unterschiedlich hergestellte Hb-Lösungen (Warner Lambert, Morris Plains, USA, bzw. Bonhard Fa. Biotest Frankfurt a.M.) ersetzt.

60 Minuten nach Blutersatz durch Hämoglobinlösung wurde den Hunden Ringers-Laktat-Lösung infundiert, wobei Menge und Infusionsgeschwindigkeit so eingestellt wurden, daß der rechte Vorhofdruck im weiteren Versuchsablauf auf der Höhe der Ausgangswerte konstant gehalten wurde.

2. Trotz des transkapillären Abstroms von Hämoglobin in den interstitiellen Raum und Infusion von durchschnittlich 100-129 ml/kg KG Ringers-Laktat-Lösung entwickelte sich bei den Versuchstieren kein klinisch diagnostizierbares Lungenödem.

3. Nach massivem Blutverlust und isovolämischem Ersatz durch SFH kann die Makro- und Mikrozirkulation kurzfristig wiederhergestellt werden. Bedingt durch die kurze intravasale Verweildauer von SFH entwickelt sich - ohne weitere Volumentherapie - jedoch innerhalb von 60 Minuten eine Hypovolämie.

4. Trotz Abnahme des Sauerstoffgesamtangebots auf 41% bzw. 37% der Ausgangswerte kann die Sauerstoffversorgung des Organismus auf Grund der angestiegenen Sauer-

stoffextraktion aus dem Gesamthämoglobin aufrechterhalten werden.

Die Sauerstoffabgabe erfolgt hauptsächlich aus intraerythrozytärem Hämoglobin. Der Anteil von SFH an der Sauerstoffversorgung war - auf Grund der hohen Sauerstoffaffinität des Hämoglobins der untersuchten Lösungen - gering.

5. Nach lichtmikroskopischer Untersuchung der Leber, der Nieren, des Herzens und der Lunge der Tiere konnten keine morphologischen Veränderungen festgestellt werden, die dem SFH zuzuschreiben wären.

6. SFH-Lösungen stellen noch keine akzeptable Alternative zu herkömmlichen Blutersatzmitteln dar. Bevor SFH als Blutersatzmittel eingesetzt werden kann, muß die O_2 -Affinität in den Bereich der Norm gesenkt, und die intravasale Verweildauer deutlich verlängert werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- (1) ALPAR, C.A., PETERS, J.J., BIRTH, A.G. and GARDNER, F.H.:
Haptoglobin synthesis
I. In vivo studies of the production of hemoglobin,
fibrinogen and κ -globulin by canine liver
J. Clin. Invest. 44, 574 (1965)

- (2) AMBERSON, W.R., FLEXNER, J., STEGGERDA, F.R., MULDER, A.G.,
TENDLER, M.J., PANKRATZ, D.S. and LANG, E.D.:
On the use of Ringer-Locke solutions containing hemo-
globin as a substitute of normal blood in mammals
J. Cell. Compar. Physiol. 5, 539 (1934)

- (3) AMBERSON, W.R., JENNINGS, J.J. and RHODE, C.M.:
Clinical experience with hemoglobin-saline solutions
J. Appl. Physiol. 1, 469 (1949)

- (4) BADENOCH, A.W. and DARMADY, E.M.:
The effect of stroma-free hemoglobin on the ischemic
kidney of the rabbit
Brit. J. Exper. Path. 29, 215 (1948)

- (5) BAKER, S.L. and DODDS, E.C.:
Obstruction of renal tubules during the excretion of
hemoglobin
Brit. J. Exper. Path. 6, 247 (1925)

- (6) BARRAT, J.O.W. and YORKE, W.:
The production of general symptoms in hemoglobinemia
Brit. Med. J., 1, 235 (1914)

- (7) BAUER, C., KLOCKE, R.A., KAMP, D. and FORSTER, R.E.:
Effect of 2,3-DPG and H^+ on the reaction of O_2 and hemoglobin
Am. J. Physiol. 224, 838 (1973)
- (8) BENESCH, R.:
Organic phosphates from the human erythrocyte
Biochem. Biophys. Res. Commun. 26, 162 (1967)
- (9) BENESCH, R., BENESCH, R.E. and YU, C.I.:
Reciprocal binding of oxygen and diphosphoglycerate by human hemoglobin
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 59, 526 (1968)
- (10) BENESCH, R.E., BENESCH, R., BANK, A., RENTHAL, R. and Bray, B.A.:
The preparation and properties of pyridoxylated hemoglobin
Proc. 1. Inter-American Symp. Hemoglobins, Caracas 1969
Genetical, Functional and Physical Studies of Hemoglobins 134 (Karger, Basel 1971)
- (11) BIRNDORF, N.J. and LOPAS, H.:
Effects of red cell stromafree hemoglobin solution on the renal function in monkeys
J. Appl. Physiol. 29, 573 (1970)
- (12) BISSEL, L., SCHMID, R. and HAMMAKER, L.:
Hemoglobin and erythrocyte catabolism in the rat liver
The separate roles of parenchymal and sinusoidal cells
Blood 40, 182 (1972)

- (13) BOBA, A.:
Response to hemorrhage replaced by lactated Ringer-
solution
Acta Anaesth. Scand. 21, 12 (1968)
- (14) BOHR, C., HASSELBALCH, K. and KROGH, A.:
Über einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluß,
den die CO₂-Spannung des Blutes auf dessen Sauerstoff-
bindung übt.
Scand. Arch. Physiol. 10, 402 (1904)
- (15) BONHARD, K.:
Preparation and examination of an infusable hemoglobin
solution
In: Martin, H. and Nowicki, L.:
Synthesis, structure and function of hemoglobin
Lehmann, München 1972, p. 285
- (16) BONHARD, K.:
Acute oxygen supply by infusion of hemoglobin solutions
Fed. Proc. 34, 1466 (1975)
- (17) BRAASCH, D.:
Red cell free dogs
In: Ditzel, J. and Lewis, D.H. (eds.)
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972, Part I
Bibl. Anat. 11, 125 (Karger, Basel 1972)
- (18) BRANDT, J.L., FRANK, N.R. and LICHTMANN, H.C.:
The effect of hemoglobin solutions on the renal
function in man
Blood 6, 1151 (1952)

- (19) BRAUN, S.R., WEISS, F., KELLER, A.I., CICCONE, J.R.
and PREUSS, H.G.:
Evaluation of the renal toxicity of heme proteins and
their derivatives: a role in the genesis of the acute
tubular necrosis
J. Exp. Med. 131, 443 (1970)
- (20) BRAUN, H.J.:
Eigenschaften und Funktion menschlicher Serumproteine
bei intravasaler Hämolyse
Deut. Med. Wochenschr. 14, 595 (1971)
- (21) BUNN, H.F. and JANDL, J.H.:
Exchange of heme among hemoglobin molecules
Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) 56, 974 (1966)
- (22) BUNN, H.F.:
Effect of sulfhydryl reagents on the binding of human
hemoglobin to haptoglobin
J. Lab. Clin. Med. 70, 606 (1967)
- (23) BUNN, H.J. and JANDL, J.H.:
Exchange of heme among hemoglobin and between hemo-
globin and albumin
J. Biol. Chem. 243, 465 (1968)
- (24) BUNN, H.J.:
The renal handling of hemoglobin
I. Glomerular filtration
J. Exp. Med. 129, 909 (1969)

- (25) BUNN, H.F.:
The renal handling of hemoglobin
II. Catabolism
J. Exp. Med. 129, 925 (1969)
- (26) BURCK, H.C., EICHNER, G., und SEDLACZEK, T.:
Das akute Nierenversagen nach Hämoglobin-Infusion mit
und ohne Erythrozytenstromata am Kaninchen
Res. Exp. Med. 166, 79 (1975)
- (27) CAREY, J.S., SCHARSCHMIDT, B.F., CULLIFORD, A.T.,
GREENLEE, J.E. and SCOTT, C.R.:
Hemodynamic effectiveness of colloid and electrolyte
solution for replacement of simulated operative blood
loss
Surg. Gynec. Obstet. 131, 679 (1970)
- (28) CHANUTIN, A. and CURNISH, R.R.:
Effect of organic and inorganic phosphates on the
oxygen equilibrium of human erythrocytes
Arch. Biochem. 121, 96 (1967)
- (29) CHERNOFF, A.J.:
Immunologic studies of hemoglobins:
I. Production of antihemoglobin sera and their
immunologic characteristics
Blood 8, 399 (1953)
- (30) CHIEN, S.:
Blood rheology and its relation to flow resistance
and transcapillary exchange with special reference
to shock
Adv. Microcirc. 2, 89 (1969) Karger, Basel

- (31) COKELET, G.R. and MEISELMAN, H.J.:
Rheological comparison of hemoglobin solutions and
erythrocyte suspension
Science 162, 275 (1968)

- (32) COCHIN, A., DAS GUPTA, T.K., DE WOSKIN, R. and
MOSS, G.S.:
Immunogenic properties of stroma vs stromafree
hemoglobin
Surg. Forum XXIII, 19 (1972)

- (33) CROSBY, W.H. and DAMESHEL, W.:
The significance of hemoglobinemia and associated
hemosiderinuria with particular reference to various
types of hemolytic anaemia
J. Lab. Clin. Med. 38, 829 (1951)

- (34) DARLING, R.D. and ROUGHTON, F.J.W.:
The effect of methemoglobin on the equilibrium between
oxygen and hemoglobin
Am. J. Physiol. 137, 56 (1942)

- (35) DUHM, J. and GERLACH, E.:
On the mechanism of hypoxia induced increase of
2,3DPG in erythrocytes:
Studies on rat erythrocytes in vivo and on human
erythrocytes in vitro
Pflügers Arch. 326, 254 (1971)

- (36) DUVELLEROY, M.A., BUCKLES, R.G., ROSENKAIMER, S.,
TUNG, C. and LAVER, M.B.:
An oxyhemoglobin dissociation analyzer
J. Appl. Physiol. 28, 227 (1970)

- (37) ELIA, C., STERNBERG, H.J., GREENBURG, A.G. and PESKIN, G.W.:
Stroma-free hemoglobin solution in the resuscitation of the hemorrhagic shock
Surg. Forum XXV, 201 (1974)
- (38) ENDRICH, B.:
Die Wirksamkeit stromafreier Hämoglobinlösung nach akutem Blutverlust beim Hund
Med. Dissertation, München 1977
- (39) ERICSON, J.L.E.:
Transport and digestion of hemoglobin in the proximal tubules
Lab. Invest. 14, 16 (1965)
- (40) FAIRLY, N.H. and BROMFIELD, R.J.:
Methemalbumin
Quart. J. Med. 10, 95 (1941)
- (41) FEOLA, M., AZAR, D., SORIANO, R. and WIENER, L.:
The effect of hemodilution with stromafree hemoglobin solution on the myocardial tissue oxygenation in experimental myocardial infarction
Clin. Res. 23, 182 A (1975)
- (42) FISHMAN, A.P.:
Pulmonary edema
Circulation XLVI, 390 (1972)

- (43) FÖRSTER, H. und HOSS, J.:
Stoffwechselstörungen bei Verwendung stromafreier
Hämoglobinlösungen als Sauerstoffträger
Infusionstherapie 1, 455 (1974)
- (44) FORSTER, R.E. and ANDERSSON, K.:
Effect of dilution and 2,3 DPG on the oxygen dissociation
curve of human hemoglobin
Fed. Proc. 29, 852 (1970)
- (45) FREE, T.:
Haptoglobin metabolism in relation to red cell
destruction
Prog. Biol. Fluids 12, 344 (1964)
- (46) FURLAN, M. and BACHOFEN, H.:
Autooxidation of hemoglobin in plasma
Experientia 32, 113 (1976)
- (47) GAISFORD, W.D., PANDEY, N. and JENSEN, C.G.:
Pulmonary changes in treated hemorrhagic shock:
II. Ringer's lactate solution versus colloid infusion
Am. J. Surg. 124, 738 (1972)
- (48) GARBY, L. and NAYES, W.D.:
Studies on hemoglobin
J. Clin. Invest. 38, 1479 (1959)
- (49) GREENBURG, A.G., PEARL, J., BELSCH, A. and PESKIN, G.W.:
An improved stromafree hemoglobin solution
Surg. Forum XXVI, 53 (1975)

- (50) GREENFIELD, L.J., REIF, M.E., COALSEN, J.J.,
MC CURDY, J.R. and ELKINS, R.C.:
Comparative effects of interstitial pulmonary edema
produced by venous hypertension or hemodilution in
perfused lungs
Surgery 71, 857 (1972)
- (51) GROHMANN, W.:
Hämodilution mit Hämoglobinlösung
Med. Dissertation, München 1977
- (52) GRUBER, U.F. and RITTMANN, W.W.:
Treatment of blood volume deficit in shock
Ann. Chir. Gyn. Fenn. 60, 187 (1971)
- (53) GUIDOTTI, E.R.:
Studies on the chemistry of hemoglobin:
II. Effects of solutions on the dissociation of
hemoglobin into subunits
J. Biol. Chem. 242, 3685 (1967)
- (54) CUMP, F.E., BUTLER, H. and KINNEY, J.M.:
Oxygen transport and consumption during acute
hemodilution
Ann. Surg. 168, 54 (1968)
- (55) HAMILTON, P.B., FARR, L.E., HILLER, A. and
VAN SLYKE, D.D.:
Preparation of hemoglobin solution for intravenous
infusion
J. Exp. Med. 86, 455 (1947)

- (56) HAMILTON, P.B., HILLER, A. and VAN SLYKE, D.D.:
The renal effects of hemoglobin infusions in dogs
in hemorrhagic shock
J. Exp. Med. 86, 477 (1947)
- (57) HANKS, G.E., LASSELL, M., RAY, R.N., and CHAPLIN, H.:
Further modification of the benzidine method for
measurement of hemoglobin in plasma
J. Lab. Clin. Med. 56, 486 (1960)
- (58) HARDWICKE, J. and SOOTHILL, J.E.:
Proteinuria in black renal disease
2nd ed. 252 (Blackwell, London, Oxford) 1967
- (59) HERSCHKO, C.:
Storage iron:
II. The uptake of hemoglobin iron by hepatic
parenchymal cell
J. Lab. Clin. Med. 80, 624 (1972)
- (60) HERSCHKO, C.:
Fate of circulating hemoglobin
Brit. J. Haemat. 29, 199 (1975)
- (61) HOBBAHN, J.:
In vivo-Wirkung einer pyridoxilierten stromafreien
Hämoglobinlösung
Med. Dissertation, München 1979
- (62) HOLDEFER, W.F. and DOWLING, E.A.:
Heterologous stromafree hemoglobin as a whole blood
substitute: Experimental use
Surg. Forum XXIV, 18 (1973)

- (63) ILIFF, L.D., GREENE, R.B. and HUGHES, J.M.:
Effect of interstitial edema on distribution of
ventilation and perfusion in the isolated lung
J. App. Physiol. 33, 462 (1972)

- (64) JAENIKE, J.R. and SCHNEEBERGER, E.E.:
The renal lesion associated with hemoglobinemia:
II. Its structural characteristics in the rat
J. Exp. Med. 123, 537 (1966)

- (65) JESCH, T., HOBBAHN, J., ENDRICH, B., PETERS, W.
and MESSMER, K.:
Improved in vivo oxygen delivery from stromafree hemo-
globin by pyridoxylation
Pflügers Arch. ges. Physiol. 362, R16 (1976)

- (66) JESCH, F.:
Unveröffentlichte Ergebnisse

- (67) KAPLAN, H.R. and MURTHY, V.S.:
Hemoglobin solution: A potential oxygen transporting
plasma volume expander
Fed. Proc. 34, 1461 (1975)

- (68) KEENE, W.R. and JANDL, J.H.:
Sites of hemoglobin-catabolism
Blood 26, 705 (1965)

- (69) KESSLER, M. and GRUNEWALD, W.:
Possibilities of measuring oxygen pressure fields
in tissue by multiwire platinum electrodes
Prog. Resp. Res. 3, 147 (1969)

- (70) KOLESNIKOW, I.S., BALLJUSEK, F.V., SHANIN, J.N.,
KOSTUCHENKO, A.L. and MALAKHOV, S.F.:
An experience with the use of hemoglobin-containing
preparation "Erigem" as a blood substitutor
Vestn. Khir. 108, 95 (1972)

- (71) LABRUDE, P., VIGNERON, C. et STREIFF, F.:
La solution d'hémoglobine comme transporteur d'oxygène
Agressiologie, 17, 49 (1976)

- (72) LATHEM, W. and WORLEY, W.E.:
The distribution of extracorpuscular hemoglobin in
the circulatory plasma
J. Clin. Invest. 38, 474 (1959)

- (73) LATHEM, W.:
The renal excretion of hemoglobin:
Regulatory mechanism and the differential excretion
of free and protein-bound hemoglobin
J.Clin. Invest. 38, 652 (1959)

- (74) LITWIN, M., WALTER, C.W., EJARQUE, P. and REYNOLDS, E.S.:
Synergistic toxicity of gram-negative bacteria and
free colloidal hemoglobin
Ann. Surg. 157, 485 (1963)

- (75) LITWIN, M.:
Effect of surgical operations on human blood
viscosity
Surgery 73, 323 (1973)

- (76) LUNDSGARD-HANSEN, P. und PAPPOVA, E.:
Respiratorische Insuffizienz, kolloidosmotischer
Druck und Albumintherapie
Infusionstherapie 1, 624 (1973/74)

- (77) MALUF, N.S.:
Factor inducing renal shut-down from lysed erythrocytes
An experimental study
Ann. Surg. 130, 49 (1949)
- (78) MANSOURI, A. and WINTERHALTER, K.H.:
Nonequivalence of chains in hemoglobin oxidation
Biochemistry 12, 4946 (1973)
- (79) MANUEL, Y. and LATERRE, E.C.:
Tubular proteinuria biochemical assay
In: Protein in Normal and Pathological Urine
ed. by Manuel, Y., Revillard, J.P., Betuel, H.
S. Karger, Basel-New York (1970)
- (80) MARTIN, S., LITWIN, M. and WALTER, C.W.:
Experimental production of acute renal tubular necrosis
Ann. Surg. 152, 1010 (1960)
- (81) MESSMER, K.:
Die Grundlagen der modernen Schocktherapie
Münch. Med. Wschr. 112, 357 (1970)
- (82) MESSMER, K., SUNDER-PLOSSMANN, L., KLÖVEKORN, W.P.
and HOLPER, K.:
Circulatory significance of hemodilution:
Rheological changes and limitations
Adv. Microcirc. 4, 1 (1972)

- (83) MESSMER, K., LEWIS, D.H., SUNDER-PLASSMANN, L.,
KLÖVEKORN, W.P., MENDLER, N. and HOLPER, K.:
Acute normovolemic hemodilution:
Changes of central hemodynamics and microcirculatory
flow in skeletal muscle
Europ. Surg. Res. 4, 55 (1972)

- (84) MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F.,
GÖRNANDT, L., SINAGOWITZ, E. and KESSLER, M.:
Oxygen supply to the tissue during limited normo-
volemic hemodilution
Res. Exp. Med. 159, 152 (1973)

- (85) MESSMER, K., GÖRNANDT, L., SINAGOWITZ, E., SUNDER-
PLASSMANN, L., JESCH, F. and KESSLER, M.:
Local oxygen tension in the tissue of different organs
during limited normovolemic hemodilution
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972,
Part II
Bibl. Anat. 12, 327 (Karger, Basel 1973)

- (86) MESSMER, K.:
Pathophysiologische Aspekte klinischer Schockzustände
Therapeutische Berichte 46, 109 (1974)

- (87) MESSMER, K. and SUNDER-PLASSMANN, L.:
Hemodilution
Progr. Surg. 13, 208 (Karger, Basel 1974)

- (88) MESSMER, K., JESCH, F., SCHAFF, J., SCHOENBERG, M.H.,
PIELSTICKER, K. and BONHARD, K.:
Oxygen supply by stromafree hemoglobin
In: Blood substitutes and plasma expanders
p. 175, Alan R. Liss Inc., New York 1978

- (89) MESSMER, K., JFSCH, F., ENDPICH, E., HOBBAHN, J.,
PETERS, W. and SCHOENBERG, M.:
Tissue PO_2 during reanimation with hemoglobin
solutions
Europ. Surg. Res. 11, 161 (1979)

- (90) MOK, W., CHEN, D. and MAZUR, A.:
Cross-linked hemoglobins as potential plasma protein
expanders
Fed. Proc. 34, 1458 (1975)

- (91) MONKE, J.V. and YUILE, C.L.:
Renal clearance of hemoglobin in the dog
J. Exp. Med. 72, 149 (1940)

- (92) MOSS, G.:
Fluid distribution after dilutional hemoexpansion
Surg. Forum XIX, 19 (1968)

- (93) MOSS, G.S., DE WOSKIN, R. and COCHIN, A.:
Stromafree hemoglobin:
I. Preparation and observation on in vitro changes
in coagulation
Surgery 74, 198 (1973)

- (94) MOSS, G.S., DE WOSKIN, R., ROSEN, A.L., LEVINE, H. and
PALANI, C.K.:
Transport of oxygen and carbon dioxide by hemoglobin-
saline solution in red-cell free primate
Surg. Gynec. Obstet. 142, 357 (1976)

- (95) MÜLLER-EBERHARD, U.:
Studies on the disposal of intravascular heme in
the rabbit
J. Lab. Clin. Med. 73, 210 (1969)
- (96) MÜLLER-EBERHARD, U.:
Hemopexin
New Engl. J. Med. 283, 1090 (1970)
- (97) MÜLLER-EBERHARD, U., BOSMAN, C. and LIEM, H.H.:
Tissue localisation of the hemoglobin-hemopexin complex
in the rabbit and the rat as studied by light micro-
scopy with the use of radioisotopes
J. Lab. Clin. Med. 76, 426 (1970)
- (98) NAGEL, R.L. and GIBSON, Q.H.:
Mechanism and formation of hemoglobin-haptoglobin complex
Proc. 1st Inter-Am. Symp. Hb. Caracas 1969
Genetical, functional and physical studies of hemoglobins
p. 208, Karger, Basel (1971)
- (99) NAGEL, R.L.:
Hemoglobin-haptoglobin and its relation to subunit
dissociation of hemoglobin
J. Biol. Chem. 246, 69 (1971)
- (100) NAKAGENIA, H. and TAKEMURA, T.:
Studies on heme-methenyl oxygenase:
I. The enzymatic conversion of pyridine-hemichromogen
and hemoglobin-haptoglobin into a possible precursor
of biliverdin
J. Biol. Chem. 238, 3784 (1963)

- (101) NAT. ACAD. SCI. NAT. RES. COUNC.
Criteria of satisfactory plasma volume expander
Washington, D.C. 1963
- (102) NOYES, W.D., BOTHWELL, TH. and FINCH, C.A.:
The role of RE-cells in iron metabolism
Brit. J. Haemat. 6, 43 (1960)
- (103) OSKI, F.:
The role of red cell 2,3 DPG and oxygen delivery to
tissue
In: Jepson, J.H. and Frankl, W.S. (eds.):
Hematological Complications in Cardiac Practice
p. 77
W.B. Saunders Company Ltd. London, Philadelphia,
Toronto 1975
- (104) OSTROW, J.D., JANDL, J.H. and SCHMID, R.:
The formation of bilirubin from hemoglobin in vivo
J. Clin. Invest. 41, 1628 (1962)
- (105) PALANI, C.K., DE WOSKIN, R., MICHUDA, M., ROSEN, A.L.
and MOSS, G.S.:
In vivo oxygen transport with stromafree hemoglobin
solution in primates
Surg. Forum XXV, 199 (1974)
- (106) PALANI, C.K., DE WOSKIN, R. and MOSS, G.S.:
Scope and limitations of SFH as an oxygen carrying
blood substitute
Surg. Clin. North. America 55, 3 (1975)

- (107) PESKIN, G.W., O'BRIEN, K. and RABINER, S.F.:
Stromafree hemoglobin solution:
The "ideal" blood substitute?
Surgery 66, 185 (1969)
- (108) PIELSTICKER, K.:
Unveröffentlichte Ergebnisse (1978)
- (109) PIMSTONE, N.R., ENGEL, P., SEITZ, P.T., MARVAR, H.S.
and SCHMID, R.:
Inducible heme oxygenase in the kidney
A model for the homeostatic control of hemoglobin
catabolism
J. Clin. Invest. 49, 74 (1970)
- (110) PIMSTONE, N.R.:
Renal degradation of hemoglobin
Seminars in Hematology 9, 31 (1972)
- (111) DONFICK, F.:
Experimentelle Beiträge zur Lehre von den Trans-
fusionen
Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. 62, 273 (1875)
- (112) RABINER, S.F. and ROSENFELD, S.:
Role of intravascular hemolysis and the reticulo-
endothelial system in the production of hypercoagulable
state
J. Lab. Clin. Med. 62, 1005 (1963)

- (113) RABINER, S.F., HELBERT, J.R., LOPAS, H. and
FRIEDMAN, L.H.:
Evaluation of stromafree hemoglobin solution as
a plasma expander
J. Exp. Med. 126, 1127 (1967)
- (114) RABINER, S.F., O'BRIEN, K., PESKIN, G.W. and
FRIEDMAN, L.H.:
Further studies with stromafree hemoglobin solution
Ann. Surg. 171, 615 (1970)
- (115) RABINER, S.F.:
Hemoglobin solution as a plasma expander
Fed. Proc. 34, 1454 (1975)
- (116) REGER, J.F., HUTT, M.P. and NEUSTEIN, H.B.:
The fine structure of human hemoglobinuric kidney
cells with particular reference to hyalin droplets
and iron micelle localization
J. Ultrastruct. Res. 5, 28 (1961)
- (117) RELIHAN, M. and LITWIN, M.S.:
Effects of stromafree hemoglobin solution on
clearance rate and renal function
Surgery 71, 395 (1972)
- (118) RELIHAN, M., OLSON, R.E. and LITWIN, M.S.:
Clearance rate and effect on the renal function of
stromafree hemoglobin following renal ischemia
Ann. Surg. 176, 700 (1972)

- (119) RELIHAN, M. and LITWIN, M.S.:
Clearance rate and renal effects of stromafree
hemoglobin on acidotic dogs
Surg. Gynec. Obstet. 137, 73 (1973)
- (120) REPLOGE, R.L. and MERILL, E.W.:
Experimental polycythemia and hemodilution -
physiologic and rheologic effects
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 60, 582 (1970)
- (121) ROBIN, E.D., CROSS, C.E. and ZELIS, R.:
Pulmonary Edema I
New Engl. J. Med. 288, 239 (1973)
- (122) ROBIN, E.D., CROSS, C.E. and ZELIS, R.:
Pulmonary Edema II
New Engl. J. Med. 288, 292 (1973)
- (123) RUDOWSKI, W., SCHIER, J., DASZYNSKI, J. and
KOSTRZEWSKA, E.:
Administration of stromafree hemoglobin solution
Haematologia 6, 409 (1972)
- (124) RUSH, B. and EISENMANN, B.:
Limits of the non-colloid solution replacement in
experimental shock
Ann. Surg. 165, 977 (1967)
- (125) SAID, S.J., LONGACHER, J.W. jr., DAVIS, R.K.,
BANERJEE, C.M., DAVIS, W.M. and WOODDELL, W.J.:
Pulmonary gas exchange during induction of pulmonary
edema in anesthetized dogs
J. Appl. Physiol. 19, 403 (1964)

- (126) SALASKIN, S. and KRIWSKY, J.:
Untersuchung über Harnstoffbildung im Tierkörper:
Perfusionsversuche
Zeitschr. Physiol. Chem. 196, 121 (1931)
- (127) SASAZUKA, T.:
Immunochemical and physiochemical properties of
haptoglobin antihemoglobin antibody and their complexes
with hemoglobin
Immunochemistry 8, 625 (1971)
- (128) SEARS, P.A.:
Disposal of plasma heme in normal man and patients
with intravascular hemolysis
J. Clin. Invest. 49, 5 (1970)
- (129) SEIFERT, J. and MESSMER, K.:
Factors influencing the ^{51}Cr -labelling of erythro-
cytes
Europ. Surg. Res. 2, 321 (1970)
- (130) SEIFERT, J., JESCH, F., KLÖVEKORN, W.P. und
MESSMER, K.:
Die Blutvolumenbestimmung beim Hund im hämorrhagi-
schen Schock
Res. Exp. Med. 157, 269 (1972)
- (131) DE SCHEPPER, J. and VAN DER STOCK, J.:
Increased urinary bilirubin excretion levels
I. Variations in the calculated renal clearances
in whole dogs
Arch. Internat. Physiol. Biol. 80, 279 (1972)

- (132) DE SCHEPPER, J. and VAN DER STOCK, J.:
Effect of a stromafree hemoglobin solution on
the urinary excretion of non-hemoglobin proteins
in dogs
Zbl. Vet. Med. 23, 217 (1976)
- (133) SCHIER, J.:
Effect of stromafree hemoglobin on respiration
and blood oxygenation
Haematologia 7, 339 (1973)
- (134) SCHMID-SCHÖNBEIN, H., WELLS, E. and SCHILDKRAUT, R.:
Microscopy viscometry blood flowing under uniform
shear rate rheoscopy
J. Appl. Physiol. 26, 674 (1969)
- (135) SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
Microrheology of erythrocytes, blood viscosity,
and the distribution of blood flow in the micro-
circulation
In: Int. Rev. Physiol., Cardiovascular Physiol. II
Guyton A.C. and Cowley A.W. (eds.) 9, 301
University Park Press, Baltimore 1976
- (136) SCHNEIDER, M., HANK, H., FÖRSTER, H. und HÜBNER, K.:
Tierexperimentelle morphologische Untersuchungen
über die Auswirkung stromafreier Lösungen mit ein-
fachem und polymerisiertem Hämoglobin auf Leber und
Niere
Verh. Dtsch. Gesellsch. Pathologie V, 195 (1976)

- (137) SCHUBERT, G.E., HAUPT, A.S. und KNEISSLS, U.:
Morphologische und funktionelle Untersuchungen zum
Hämoglobinabbau in ischämisch geschädigten Tubulus-
epithelien der Niere
Verh. Dtsch. Gesellsch. Pathologie V, 199 (1976)
- (138) SIGGAARD-ANDERSEN, O. and ENGEL, K.:
A new acid base nomogramm
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 177 (1960)
- (139) SNYDER, A.C. and SCHMID, R.:
The conversion of hematin to bile pigment in the
rat
J. Lab. Clin. Med. 65, 817 (1965)
- (140) STUART, F., KORNFELD, S., CHIPMAN, B., and BROWN, E.B.:
Intracellular catabolism of hemoglobin and iron
dextran by the rat liver
J. Lab. Clin. Med. 73, 181 (1969)
- (141) SUNDER-PLOSSMANN, L., JESCH, F., SEIFERT, J.,
GROHMANN, W. and MESSMER, K.:
The hemodynamic and hemorheological effects of
stroma-free hemoglobin solution
In: Ditzel, J. and Lewis, D.H. (eds.)
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972,
Part II Methodology in microcirculation
Bibl. Anat. 11, 104 (Karger, Basel 1972)

- (142) SUNDER-PLASSMANN, L. , KLÖVEKORN, W.P., MESSMER, K.
und BRENDDEL, W.:
Veränderungen der Hämodynamik und Fließeigenschaften
des Blutes bei Anwendung künstlicher Kolloide
In: Ahnefeld, F.W., Burri, C. und Halmagyi, M.:
Akute Volumen- und Substitutionstherapie mit Blut,
Blutbestandteile und Elektrolyte S. 139
J.F. Lehmann Verlag, München 1973
- (143) SUNDER-PLASSMANN, L. und MESSMER, K.:
Funktionelle Veränderung der Mikrozirkulation im
Schock
In: Ahnefeld, F.W., Burri, C., Dick, W., Halmagyi, M.:
Mikrozirkulation
Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie Band 5
S. 76 (Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New
York 1974)
- (144) SUNDER-PLASSMANN, L., SINAGOWITZ, E., DIETERLE, R.,
KLÖVEKORN, W.P., KESSLER, M., SEIFERT, J. and
MESSMER, K.:
Blood replacement with stromafree hemoglobin solution
Europ. Surg. Res. 5, 46 (1973)
- (145) SUNDER-PLASSMANN, L., DIETERLE, R., SEIFERT, J.,
JESCH, F., MESSMER, K.:
Stromafree haemoglobin solution as a blood replacement
fluid. Actual state and problems.
Europ. J. Intensive Care Med. 1, 37 (1975)
- (146) SWAN, H.J.C. and GANZ, W.:
Use of Ballon flotation catheters in critically ill
patients
Surg. Clin. North Amer. 55, 501 (1975)

- (147) SZABO, G., MAGYAR, S. and KOCSAR, L.:
Passage of hemoglobin into the urine and lymph
Acta Medica Hung. XXI, 349 (1965)
- (148) TAKAORI, M. and SAFAR, P.:
Acute, severe hemodilution with lactated Ringer's
solution
Arch. Surg. 94, 67 (1967)
- (149) TAM, S., BLUMENSTEIN, J. and WONG, J.T.:
Soluble dextran-hemoglobin complex as a potential
blood substitute
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 73, 2128 (1976)
- (150) TENHUNEN, R., MARVER, H.S. and SCHMID, R.:
The enzymatic conversion of heme to bilirubin by
microsomal heme oxygenase
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 61, 748 (1968)
- (151) TENHUNEN, R., MARVER, H.S. and SCHMID, K.:
The enzymatic conversion of hemoglobin to bilirubin
by microsomal hemoxygenase
Trans. Ass. Amer. Physicians 82, 363 (1969)
- (152) TENHUNEN, R., MARVER, H.S. and SCHMID, K.:
Characterization of the enzyme: Microsomal heme
oxygenase
B. Biol. Chem. 244, 6388 (1969)

- (153) TENHUNEN, R., MARVER, H.S. and SCHMID, R.:
The enzymatic conversion of hemoglobin:
Stimulation of microsomal heme oxygenase by hemin
J. Lab. Clin. Med. 75, 410 (1970)
- (154) TENHUNEN, R.:
Enzymatic degradation of heme
Seminars in Hematology 9, 19 (1972)
- (155) THORBECKE, H.J., LEIM, H.H., KNIGHT, S., COX, K.
and MÜLLER-EBERHARD, U.:
Sites of formation of the serum protein, transferrin
and hemopexin
J. Clin. Invest. 52, 725 (1973)
- (156) UNSELD, H.:
Einfluß einer stromafreien Hämoglobininlösung auf den
Kreislauf und die Nierenfunktion im hämorrhagischen
Schock
Lagenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum 1972, 403
- (157) USZYNSKI, L., SCHIER, J., RUDOWSKI, W. and DASZYNSKI, J.:
Effects of stromafree hemoglobin solution on the
blood clotting system in dogs
Europ. Surg. Res. 8, 204 (1976)
- (158) WELLS, R.E. jr. and SCHMID-SCHÖNBEIN, H.:
Red cell deformation and fluidity concentrated
cell suspension
J. Appl. Physiol. 27, 213 (1969)

(159) WITH, T.K.:

The bilirubin production of the human organism
and its significance to the pathogenesis of
jaundice

Acta Med. Scand. 123, 166 (1946)

Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel bin ich für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes im Institut für Chirurgische Forschung zu großem Dank verpflichtet.

Sehr bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. K. Messmer, der mich mit wertvollen Anregungen, Kritik und großer Geduld in die wissenschaftliche Arbeits- und Denkweise eingeführt hat.

Bei Herrn Dr. F. Jesch bedanke ich mich für die Unterstützung und die vielen hilfreichen Ratschläge zum Fortgang dieser Arbeit.

Für die histologischen Untersuchungen und Befunde möchte ich mich bei Herrn PD Dr. K. Pielsticker bedanken.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen des Instituts danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der Experimente sowie für die Mühe bei der Anfertigung der Abbildungen.

LEBENS LAUF

Am 30. Januar 1951 wurde ich in Springfield, Ohio (USA) geboren. Meine Eltern sind Herr Hans W. Schoenberg, Ph.D. (The Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland) und Frau Renate, geb. Jaeger, dipl. rer. pol. (Universität Breslau).

Ab Herbst 1958 besuchte ich die Volksschule Turner III in München. 1962 trat ich in die Oberrealschule Adolf Weber in München ein und wechselte 1966 ins Gymnasium Grafing in Grafing. 1967 verbrachte ich ein halbes Jahr an der St. Albans Highschool in Washington, D.C. Am 19.6.1971 legte ich das Abitur an der Luitpold-Oberrealschule in München ab.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich mein Medizinstudium an der Ludwig Maximilians-Universität in München. Nach dem Sommersemester 1972 legte ich das Vorphysikum ab und nach dem Wintersemester 1973/74 das Physikum. Nach dem Wintersemester 1974/75 bestand ich die erste ärztliche Prüfung und nach dem Sommersemester 1977 die zweite ärztliche Prüfung.

Im Rahmen des praktischen Jahres arbeitete ich an der radiologischen Abteilung der Universität München, in der zweiten Medizinischen Klinik der Universität München in Großhadern, sowie in der 2. Chirurgischen Abteilung des Hauptkrankenhauses in Augsburg. Im November 1978 legte ich die dritte ärztliche Prüfung mit Erfolg ab.

Seit Januar 1979 arbeite ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter im Department für experimentelle Medizin, Pharmacia AB, in Uppsala, Schweden.

